



# भारत का राजपत्र The Gazette of India

असाधारण  
EXTRAORDINARY

भाग II—खण्ड 3—उप-खण्ड (i)  
PART II—Section 3—Sub-section (i)

प्राधिकार से प्रकाशित  
PUBLISHED BY AUTHORITY

सं. 363]

नई दिल्ली, बुधवार, अगस्त 31, 1994/भाद्र 9, 1916

No. 363] NEW DELHI, WEDNESDAY, AUGUST 31, 1994/BHADRA 9, 1916

स्वास्थ्य और परिवार कल्याण मंत्रालय

(स्वास्थ्य विभाग)

अधिसूचना

नई दिल्ली, 31 अगस्त, 1994

सा.का.नि. 659(अ)—औषधि और प्रसाधन सामग्री नियम, 1945 का और संशोधन करने के लिये कुछ नियमों का एक प्राकल्प औषधि और प्रसाधन सामग्री अधिनियम, 1940 (1940 का 23) की धारा 12 और धारा 33 की अपेक्षानुसार भारत सरकार के स्वास्थ्य और परिवार कल्याण मंत्रालय (स्वास्थ्य विभाग) की अधिसूचना सं. सा.का.नि. 836(अ), तारीख 30 अक्तूबर, 1992 द्वारा, भारत के राजपत्र, असाधारण, भाग 2, खंड 3, उपखंड (i), तारीख 30 अक्तूबर, 1992 में प्रकाशित किया गया था, जिसमें ऐसे सभी व्यक्तियों से, जिनके उसमें प्रभावित होने की संभावना है, उस तारीख से, जिसको राजपत्र की प्रतियां जनता को उपलब्ध करा दी गई थी, तीन दिन की अवधि की समाप्ति के पूर्व आक्षेप और सुझाव मांगे गए थे।

और उक्त राजपत्र की प्रतियां 11-1-1993 को जनता को उपलब्ध करा दी गई थी,

और केन्द्रीय सरकार ने उक्त प्राकल्प नियमों के संबंध में जनता से कोई आक्षेप या सुझाव प्राप्त नहीं किया है।

अतः, अब, केन्द्रीय सरकार उक्त अधिनियम की धारा 12 और धारा 33 द्वारा प्रदत्त शक्तियों का प्रयोग करते हुए, औषधि तकनीकी मज़ाहकार बोर्ड से परामर्श करने के पश्चात् औषधि और प्रसाधन सामग्री नियम, 1945 का और संशोधन करने के लिए निम्नलिखित नियम बनाती है, अर्थात् :—

1. (1) इन नियमों का संक्षिप्त नाम औषधि और प्रसाधन सामग्री (छठवां संशोधन) नियम, 1994 है,

(2) ये राजपत्र में प्रकाशन की तारीख को प्रवृत्त होंगे।

2. औषधि और प्रसाधन सामग्री नियम, 1945 की अनुसूची च (1) भाग-1 में,

(1) “(क) जीवाणुजन्य वैक्सीनों के उत्पादन को लागू होने वाले उपबंध शीर्षक के नीचे—

(क) पैरा 3 में प्रविष्टि 6 के पश्चात्, निम्नलिखित प्रविष्टियां अंतःस्थापित की जायेंगी, अर्थात् :—

“7. बहुघटक क्लोस्ट्रिडियल वैक्सीन।

8. रक्त स्रावी पूर्ति जीव रक्तता वैक्सीन-फिटकरी से संसाधित”।

(ख) “एन्थैक्स स्पोर वैक्सीन (जीवित)” विनिबन्ध के नीचे (1) पैरा 4 में, मद (छ) के स्थान पर, निम्नलिखित रखा जायेगा, अर्थात् :—

“(छ) जीवनक्षम गणना—जब वैक्सीन उपयुक्त माध्यम पर प्लेटित की जाए तो प्रत्येक पशु मात्रा में 1 करोड़ जीवनक्षम स्पोर और प्रत्येक भेड़ मात्रा में 50 लाख स्पोर दिखाई पड़ने चाहिए।”

(2) पैरा 6 के स्थान पर, निम्नलिखित पैरा रखा जायेगा, अर्थात् :—

“(6) श्रवसान की तारीख—वैक्सीन की शक्ति के के अवमान की तारीख विनिर्माण की तारीख से दो वर्ष से अधिक नहीं होगी, यदि 4° से. में रखी जाए, और छह मास से अधिक नहीं होगी, यदि कमरे के तापमान पर रखी जाए।” ;

(ग) “भेड़ और बकरियों में पेस्टेरिलोमिस की ओल्ड एडजुवेंट वैक्सीन” विनिबन्ध के पश्चात् निम्नलिखित विनिबन्ध और प्रविष्टियां अंतःस्थापित की जायेंगी, अर्थात् :—

“बहुघटक क्लोस्ट्रिडियल वैक्सीन”

1. पर्यायवाची क्लोस्ट्रिडियल का परफ्रिन्जेन्स टाइप ग और घ, ग-1 सैप्टिकम और ग 1 ई डीमेटियन्स का संयुक्त एनाकल्चर।

2. परिभाषा—यह चार उच्च एंटीजनी घटकों से मिलकर बनती है जिसमें ग-1 परफ्रिन्जेन्स टाइप घ, ग-1 परफ्रिन्जेन्स।

परफ्रिन्जेन्स टाइप ग, ग-1 ओएडे मेटियन्स और ग-1, सैप्टिकम टांक्साइड अंतर्विष्ट है जिन्हें द्विगुणात्मक शक्ति में तैयार किया जाता है और तब ऐसे अनुपात में मिलाया जाता है जो वैक्सीनोहृत भेड़ में वैक्सीन में समाविष्ट प्रत्येक

एन्टीजन के विरुद्ध पर्याप्त एन्टीटॉक्सिन प्रतिक्रिया उभार सकें।

3. निर्मिति—उपर्युक्त प्रभेद पृथक रूप से उपयुक्त तरल माध्यम में ऐसी दशाओं में बनाये जाते हैं जिससे कि अधिकतम टांक्सिन उत्पादन सुनिश्चित हो सके। संवर्धनी की शुद्धता और विषैलता के लिये चूहों में जांच की जाती है। विश्लेषण श्रेणी के फार्मेलिडाइड आई. पी. के घोल का 0.5 प्रतिशत अंतिम सांद्रण में मिला दिया जाता है और निश्चित संवर्धन 37 से. से. पर तब तक रखा जाता है जब तक कि उत्पाद विस्कमित और निविष न हो जाये। 10 प्रतिशत तक रसायन और पी 6.0 तक समायोजित पी.एच. का अंतिम संकेन्द्रण प्राप्त करने के लिये, आसवित जल में एल्यूमिनियम क्लोराइड का 20 प्रतिशत घोल मिला कर निश्चित प्रतिसंवर्ध (एनाकल्चर) तैयार किया जाता है। अवसादित टांक्साइड (सेडीमेंट टांक्साइड) का पुनर्निर्माण सामान्य सैलाइन में उसकी आधी मूल प्रबलता में किया जाता है।

4. मानक—

(क) विवरण :—मृत जीवाणु और टांक्साइड को निर्दिष्ट रूप में रखते हुए यह पूर्ण रूप में हिलाए जाने पर एक श्वेत तरल पदार्थ होता है।

(ख) पहचान जब ग्रहणशील पशुओं में अंतःक्षिप्त किया जाये तो वह, सीएल, परफ्रिन्जेन्स टाइप घ और ग के विरुद्ध एप्सिलॉन और बीटा एंटीटॉक्सिन के उत्पादन को उद्दीप्त करता है और सी.एल सैप्टिक और ओ डीमेटियन्स के टांक्सिन के विरुद्ध एन्टीटॉक्सिनों को भी उद्दीप्त करता है।

(ग) निर्जीवाणुता परीक्षण “जीवाणुजन्य वैक्सीन” विषयक साधारण विनिबन्ध (मोनोग्राफ) में वर्णित निर्जीवाणुता के परीक्षण के अनुरूप है।

(घ) निरापदता परीक्षण उत्पाद के 10 मि.लि. एम सी का टीका चार भेड़ों में से प्रत्येक को लगा दिया जाता है और सात दिनों तक इन पर जिसके दौरान ये पशु कोई स्थानीय या सर्वांग संबंधी प्रतिक्रिया प्रकट नहीं करेंगे, निगरानी की जाती है।

(ङ) शक्ति परीक्षण आठ भेड़ों में से प्रत्येक को 21 दिन के अंतराल पर एस सी टीके की दो मात्रा दी जाती है और उक्त वैक्सीन में समाविष्ट प्रत्येक एन्टीजन के विरुद्ध एंटीटॉक्सिन अनुपांक निर्धारित करने के प्रयोजन के सीरम संकलन करने के लिये दूसरे टीके

के बाद दसवें दिन उनका खून लिया जाता है। संरोपणान्त सोरम में एक्सीलोन और सी.एल. पर फिन्जेन्स के बीटा एंटीटाक्सिन का 2 आई यू और सी एल सैण्टीकम एंटीटाक्सिन का 2.5 आई यू और सी एल इंडीमेटियन्स एंटीटाक्सिन का 4 आई यू से कम नहीं होगा।

5. लेबल लगाना और भंडारण :—“जीवाणुजन्य वैक्सीन” संबंधी साधारण विनियम में लेबल लगाने और भंडारण करने के संबंध में उल्लिखित अपेक्षाओं के अनुरूप करेगा।

6. अवसान की तारीख—वैक्सीन की शक्ति को समाप्ति की तारीख उसके विनिर्माण की तारीख से छह मास से अधिक नहीं होगी।

रक्त क्षापी पूर्ति जीवरक्तता वैक्सीन फिटकरी संसाधित

1. पर्याय—पाश्चुरेला मल्टोसोडा (यर्सीनिया कल्टोसीडा) वैक्सीन फिटकरी संसाधित।

2. परिभाषा—यह वैक्सीन पोटाश फिटकरी से संसाधित न्यूट्रिएंट ब्रीथ में पाश्चुरेला-मल्टीसोडा के उग्र विभेद का संरूपित संवर्ध है।

3. निर्मित—प्रथम चरण में पाश्चुरेला मल्टीसोडा टाइप 1 को उच्च शक्ति विभेद न्यूट्रिएंट ब्रीथ 37 से. ग्रे. पर संवर्धित किया जाता है। शुद्ध संवर्ध को समुचित सांद्रता (0.5 प्रतिशत) वाला फॉर्मेलिन आई.पी. का घोल मिलाकर मार दिया जाता है। इसे 1 प्रतिशत का अंतिम सांद्रण तैयार करने के लिये इसे पोटेनियम फिटकरी आई.पी. से संसाधित किया जाता है।

#### 4 मानक—

(क) विवरण यह श्वेत निलम्बन है जिसमें मृत जीवाणु और फिटकरी होते हैं।

(ख) पहचान—यह ग्रहणशील पणुओं को पी. मल्टो-सोडा से संक्रमण के विरुद्ध संरक्षण प्रदान करता है।

(ग) निर्जीवाणुता परीक्षण—“जीवाणुजन्य वैक्सीन” संबंधी साधारण विनियम में वर्णित निर्जीवाणुता परीक्षण के अनुरूप है।

(घ) निरापदता परीक्षण—चार स्वस्थ शशकों को, जिनमें प्रत्येक का वजन 1 से 15 कि.ग्रा. हो, अवतक् रूप से इस उत्पाद के 5 मि.लि. से संरोपित किया जाता है। सात दिनों के अवलोकन की अवधि के दौरान थोड़ी स्थानीय सूजन को छोड़कर और कोई प्रतिक्रिया नहीं होगी। बारी-

बारी से दो शशक और छह चूहे लिए जा सकते हैं। चूहे के लिए मात्रा 0.5 मि.लि. होगी।

5. लेबल लगाना और भण्डारण—“जीवाणुजन्य वैक्सीन विषयक साधारण विनियम में यथा अधिकथित लेबल लगाने और भण्डारण की अपेक्षाओं का अनुपालन करेगा।

6. अवसान की तारीख—वैक्सीन की शक्ति के अवसान की तारीख उसके विनिर्माण की तारीख से छह मास से अधिक नहीं होगी।

(2) “(ख) विषाणुजन्य वैक्सीन के उत्पादन को लागू होने वाले उपबंध” शीर्षक के अंतर्गत

(क) पैरा 3 में, प्रविष्टि (xi) के पश्चात् निम्नलिखित प्रविष्टि अंतःस्थापित की जाएगी, अर्थात्:—

“(xii) पाव और मुख रोग वैक्सीन (निष्क्रियकृत)

(xiii) कैनाइन हेपाटाइटिस वैक्सीन (जीवित)”

(ख) पैरा 4 के स्थान पर निम्नलिखित पैरा रखा जाएगा, अर्थात्:—

“4 अभिलेख—वैक्सीन तैयार करने में किए गए बीज विषाणु का बीज तैयार करने के लिए प्रयुक्त किए जाने से पूर्व, शुद्धता, निरापदता निर्जीवाणुता और प्रतिजनन के लिए एक विशिष्ट विषाणु को लागू सामान्यतः स्वीकृत परीक्षण द्वारा, पूर्ण रूप से परीक्षण किया जाएगा जब तक कि किसी विशिष्ट विषाणु के लिए अन्यथा विहित न किया जाए, यह स्टॉक बीज विषाणु के बीज से पांच संक्रमण से अधिक दूरस्थ नहीं होगा। स्टॉक बीज विषाणु को बीज लॉट पद्धति द्वारा विनिर्दिष्ट संक्रमण स्तर पर रखा जाएगा और उसका परीक्षण जीवाणुविक, कवकद्रव्य (माइको प्लाजमल) और असंबद्ध विषाणु संश्लेषण के लिए किया जाएगा। अनु-प्रतिधारी द्वारा रख जाने के लिए अपेक्षित स्थायी अभिलेख में, ऐसे बीज विषाणु के मूल (उसके) गुण और लक्षण संबंधी अभिलेख भी सम्मिलित है, जिससे वैक्सीन तैयार की जाती है” ;

(ग) पैरा 7 में, उपपैरा (ii) के पश्चात् निम्नलिखित उपपैरा अंतःस्थापित किया जाएगा, अर्थात्:—

“(iii) कुक्कटा को, जिनसे वैक्सीन उत्पादन के लिए अंडे और शैल कल्चर प्राप्त किए जाते हैं, इस रीति से आवासित किए जाएं कि वे बाह्य संक्रमण से मुक्त रहें और उनकी साधारण जीवाणुजन्य, कवकद्रव्य और विषाणु संक्रमण के लिए बार-बार अंतरालों पर जांच की जाएगी। परीक्षणों और उनके परिणामों के अभिलेख विनिर्माताओं द्वारा रखे जाएंगे।”

(घ) “कुक्कुट चेचक वैक्सीन भ्रूण विषाणु (जीवित) विनिबंध के अधीन पैरा 3 में बारह से तेरह दिन के भ्रूणों की संक्रामित झिल्लियां (स्टाक बीज विषाणु) के निलम्बन की समुचित तनुता से अन्तःक्षेपित किया जाता है” शब्दों के स्थान पर निम्नलिखित शब्द रखे जाएंगे, अर्थात्:—

“बारह से तेरह दिन के भ्रूणों को कुक्कुट चेचक ग्रंथीकृत कुक्कुट भ्रूण विषाणु की संक्रामित झिल्लियां (बीज विषाणु) के निलम्बन की समुचित तनुता से अन्तःक्षेपित किया जाता है।”

(ङ) “कुक्कुट चेचक वैक्सीन कृत्रिम चेचक विषाणु (जीवित)” विनिबंध के अधीन पैरा 4 के उपपैरा (ग) में, द्वितीय पैरा के पश्चात् निम्नलिखित अंतःस्थापित किया जाएगा, अर्थात्:—

“परीक्षण के अधीन वैक्सीन की फील्ड मात्रा के दस गुने का 0.2 मि. लि. से तीन परख पक्षियों को अंतःनाल द्वारा अन्तःक्षेपित किया जाए। यह समूह यह उपदर्शित करने का कार्य करता है कि उत्पाद संक्रामक लैरिगोट्रिकियाइडिम के विषाणु से और इसी प्रकार के अन्य रोगों से मुक्त है या नहीं।”

(च) “रानीखेत-रोग वैक्सीन (जीवित)” विनिबंध के अधीन, या पैरा 4 के खंड (ग) में, “प्रतिश्याप” शब्द का लोप किया जाएगा और “कंट्रोल्स” शब्द से समान होने वाले पैरा के पश्चात् निम्नलिखित पैरा अंतःस्थापित किया जाएगा, अर्थात्:—

“तीन परख पक्षियों को परीक्षण की जाने वाली वैक्सीन की 0.2 मि. लि. मात्रा अंतःनालिका द्वारा अन्तःक्षेपित की जाए। यह समूह यह उपदर्शित करता है कि उत्पाद प्रतिश्याप के विषाणु से और उसी प्रकार के रोगों से मुक्त है, या नहीं।”

(छ) “रानीखेत रोग वैक्सीन एफ स्ट्रेन (जीवित) विनिबंध (मोनोग्राफ) के अधीन पैरा 4 के उपपैरा (ग) में “0.1” ग्रंथों के स्थान पर “1.0” ग्रंथ रखे जाएंगे,”

(ज) विनिबंध शूकर ज्वर वैक्सीन लैर्जिड (जीवित) के पश्चात् निम्नलिखित विनिबंध (मोनोग्राफ) और प्रविष्टियां अंतःस्थापित की जाएंगी, अर्थात्:—

पाद और मुख रोग वैक्सीन (निष्क्रियकृत)

1. पर्याय निष्क्रियकृत ऊतक संबंधी एक या बहु-संयोजक पाद और मुख रोग वैक्सीन।

2. परिभाषा:—पाद और मुख रोग वैक्सीन एक तरल उत्पाद या विनिर्मित है जिनमें एक या अधिक किस्म के पाद मुखरोग विषाणु होते हैं। जिन्हें इस प्रकार निष्क्रिय कर दिया जाता है कि इसका प्रतिरक्षाजनी गुण बना हुआ रहता है। इसमें गुणवर्धक भी अंतर्विष्ट होता है। उस वैक्सीन को, प्रयोग किए गए विषाणुओं की किस्मों के आधार पर एक

संयोजक, द्विसंयोजक, त्रिसंयोजक या बहु संयोजक भी कहा जाता है।

3. विनिर्मिति—विषाणु को उपयुक्त कोशिका कल्चर में संचारित किया जाता है। कोशिका कल्चर का विषाणु के किमी समुचित संरोग के साथ संक्रमित किया जाता है और विषाणु के गुणन के लिए उपयुक्त तापमान पर उष्मायन किया जाता है। विषाणु कार्य परिणामित होता है और कोशिका को मलबे की निष्पन्न के द्वारा हटाया जाता है। समुचित एजेंट जैसे फॉर्मलीहाइड घोल या किसी एजीरिडीन मिश्रण द्वारा निष्क्रियण पूरा किया जाता है। इसका गुणवर्धक एल्यूमिनियम हाइड्रोक्साइड और/या सैफॉनिन हो सकता है। निष्क्रियकृत जैल वैक्सीन की दशा में, हाप्रतिजन का अवसादन द्वारा + 4 से. पर गाढ़ा किया जाता है। बहुसंयोजक वैक्सीन तैयार करने के लिए संयोजक प्रतिजनों को अन्तिम मिश्रण तैयार करने के लिए समुचित मात्राओं में मिश्रित किया जाता है।

4. मानक.—(क) वर्णन भंडारित किए जाने पर एल्यूमिनियम हाइड्रोक्साइड जैल वैक्सीन अधिप्लबी को स्वच्छ छोड़कर परिवर्ती डिग्री पर स्थिर हो जाता है।

(ख) पहचान:—यह पशुओं को, विषाणु को समजात टाइप/सब स्टाप के कारण पाद और मुख रोग से रक्षा करता है।

(ग) निर्जीवाणुता परीक्षण:—इसमें “विषाणु वैक्सीनों के साधारण विनिबंध” के अधीन विहित किए गए निर्जीवाणुता के लिए परीक्षणों का अनुपालन किया जाएगा।

(घ) सुरक्षा परीक्षण:—यह परीक्षण 12 मास से अन्यून आयु के पूर्णतः ग्रहणशील पशुओं पर किया जाता है जिन्हें न तो टीके द्वारा और न ही पूर्व संक्रमण द्वारा सुग्राहीकृत किया गया हो। तीन ग्रहणशील पशुओं को 2 मि. लि. के परिष्कृत उत्पाद से उनकी जिह्वा पर अनेक स्थानों पर अंतःस्वयीय मार्ग से संरोपित किया जाता है और 4 दिनों तक उसका संप्रेषण किया जाता है। उन्हीं पशुओं को चौथे दिन अवत्वक रूप से तीन पशु की मावाओं के माध्य संरोपित किया जाता है और 6 दिनों की और अवधि के लिए उनका संप्रेषण किया जाता है। पशुओं पर एफ.एम.डी. के कोई चिह्न प्रकट नहीं होंगे और वे सामान्य रहेंगे।

(ङ) शक्ति परीक्षण:—वैक्सीन के प्रत्येक बैच का परीक्षण 15 मास से अन्यून आयु के ग्रहणशील पशुओं पर किया जाएगा। पशुओं पर शक्ति परीक्षण निम्नलिखित किसी भी रीति से किया जा सकेगा:—

(i) पी.डी. 50 पद्धति वैक्सीन का परीक्षण समुचित रूप में गुणवर्धक या अगुणवर्धक तनुकारक में तैयार किए गए वैक्सीन के समुचित तनुकरण से टीका लगाए गए जानवरों को चैलेंज करके ग्रहणशील पशुओं में पी.डी. 50 का अवधारण करके किया जाएगा। प्रति तनुकरण के लिए कम से कम पांच पशुओं का प्रयोग किया जाएगा

और टीका न लगाए गए दो पशुओं को चैलेंज के नियंत्रण के रूप में सम्मिलित किया जाएगा। टीके के बाद के 21वें दिन सभी जानवरों को उनकी जिह्वा पर विषाणु के समजात विभेद के 10,000 आई.डी. 50 द्वारा संरोपित करके नीडल चैलेंज किया जाता है।

नियंत्रणाधीन पशुओं को इसी प्रकार चैलेंज किया जाएगा। पशुओं का विशक्तियों के उभार के लिए 10 दिन तक संप्रेक्षण किया जाता है। असंरक्षित पशुओं पर एफ.एम.डी. के कारण साधारणीकृत घाव दिखाई पड़ते हैं। नियंत्रणाधीन पशुओं पर साधारण रूप में विशक्तियाँ अवश्य दिखाई पड़नी चाहिए। प्रत्येक समूह में संरक्षित कई पशुओं में वैक्सीन की पी.डी. 50 अन्तर्वस्तु की संगणना की जाती है। यदि परीक्षण में तीन या अधिक को संप्रेक्षित पी.डी. 50 मान अभिप्राप्त होता है तो वैक्सीन का परीक्षण पास होगा।

(ii) प्रतिशतता संरक्षण पद्धति जिसमें इस स्वस्थ ग्रहणशील पशुओं के समूह में से प्रत्येक की अवत्वक रूप से टीकाकृत मात्रा से अन्तः क्षेपित किया जाता है और 14-21 दिनों के बाद पशुओं की उनकी जिह्वा पर तीन अलग-अलग स्थानों पर वैक्सीन के विनिर्मित में प्रयुक्त विषाणु के विभेद की 10,000 आई.डी. 50 के साथ आंतरचर्मीय इंजेक्शन के द्वारा चैलेंज किया जाता है। यदि उस समूह में दस में से कम से कम साधारणीकृत संक्रमण के विरुद्ध विकसित होने में बचे रहते हैं तो वैक्सीन पाम किया जा सकेगा यद्यपि सभी नियंत्रणों को मुख और पाद में संप्रेक्षणीय प्राथमिक और द्वितीयक विशक्तियों के विकास द्वारा प्रतिक्रिया करनी चाहिए।

अन्य कारणों से और यदि पशु-परीक्षण संभव नहीं होता है तो गिनी पिगों में वैक्सीन की शक्ति, उनको चैलेंज करके जिनकी पहले टीका लगाया जा चुका है, या तो लुयकाम, "सी" इन्डेक्स द्वारा या पी. टी. 50 पद्धति द्वारा अवधारित की जा सकेगी परन्तु यह तब जब कि गिनी पिगों का चैलेंज परीक्षणों और पशु चैलेंज परिणामों के बीच परस्पर संबंध स्थापित किया जा चुका हो।

पशुओं में सीरम निष्प्रभावन प्रतिरक्षी अनुमाप का प्राक्कलन वैक्सीन की शक्ति का मूल्यांकन करने के लिए समर्थक परीक्षण के रूप में माना जा सकेगा।

तथापि, जब सभी परीक्षण की अन्य स्वीकृत पद्धतियों शंकास्पद हो तो वैक्सीन में पशुओं में वैक्सीन का शक्ति परीक्षण प्रति पांच बैचों में कम से कम एक बैच में किया जाएगा।

5. लेबल लगाया : साधारण विनिबन्ध (मोनोग्राफ) में अधिककथित "लेबल लगाना"

अपेक्षाओं के अनुसार इस पर लेबल लगाया जाएगा। इसके अतिरिक्त यह अपेक्षा है कि डिब्बे के लेबल में उन विषाणु टाइपा का उल्लेख होना जिनका प्रयोग उसकी विनिर्मिति में किया गया है।

#### 6. भंडारकरण :

इसकी रोशनी से सुरक्षा की जानी चाहिए और 4° सेंटीग्रेड से 8° सेंटीग्रेड पर भंडारण किया जाना चाहिए। इन शर्तों के अधीन रखे जाने पर यह अनुमान किया जाता है कि वह अपनी शक्ति कम से कम बारह मास तक बनाये रख सकेगी। एल्यूमिनियम हार्ड ड्रोकसाइड बैक्सीन को हिमीकरण से बचाना आवश्यक है हिमीशीलत उत्पाद उपयोग के लिए उपयुक्त नहीं होगा।

केनाइन यकृतशोध वैक्सीन (जीवित) : —

1. लक्षण : संक्रमक केनाइन यकृतशोध वैक्सीन (जीवित) केनाइन यकृतशोध कोशिका संवर्धन वैक्सीन

2. परिभाषा : केनाइन यकृतशोध वैक्सीन (जीवित) हिम-शुष्कित उत्क संवर्धन संबंधी तरल विनिर्मित है, जिसमें अंगीकृत केनाइन यकृतशोध विषाणु कोशिका संवर्धन सम्मिलित है।

3. विनिर्मित : केनाइन यकृतशोध वैक्सीन ऐसे विषाणु से तैयार किया जाएगा जिसमें कोशिका संवर्धन हो।

केबल ऐसे स्टॉक सीड विषाणु का, जिसे शुद्ध सुरक्षित और प्रतिरक्षाजनी सिद्ध किया गया है, वैक्सीन की विनिर्मित में उपयोग किया जाएगा।

प्रतिरक्षाजनक परीक्षण—स्टॉक सीड विषाणु के प्रत्येक वाट का प्रतिरक्षा जनक के लिए निम्नलिखित परीक्षण किया जायेगा —

8-14 सप्ताह आयु के केनाइन यकृतशोध ग्रहणशील तरह कुत्तों का प्रयोग परीक्षण में किया जाएगा (10 वैक्सीन द्वारा और 3 नियंत्रण से) (1) इन पशुओं से रक्त के नमूने प्राप्त किए जाएंगे और केनाइन यकृतशोध विषाणु के विरुद्ध प्रतिजैवक की उपस्थिति के लिए प्रत्येक के सीरम नमूनों का परीक्षण किया जाएगा दस कुत्तों को विषाणु की पूर्व निर्धारित मात्रा से अवत्वक रूप से टीका लगाया जाएगा और शेष 3 कुत्तों को वैक्सनीकरण रहित नियंत्रण के रूप में रखा जाएगा मात्रा आकलन उपयुक्त कोशिका संवर्धन पद्धति में विषाणु अनुमापन पर आधारित होगा। टीका लगाने के कम से कम 14 दिन बाद वैक्सीनकृत और नियंत्रणों प्रत्येक को उग्र संक्रमक केनाइन यकृतशोध विषाणु से अन्त नाड़ी रूप में चुनौती दी जाएगी और 14 दिन तक प्रति दिन अवलोकन किया जाएगा तीन नियंत्रणों में से कम से कम दो की मृत्यु हो जाएगी और शेष जीवित में केनाइन यकृत शोध के क्लिनिकल लक्षण दिखाई देंगे दस वैक्सीन यकृत में से नौ कुत्ते जीवित रहेंगे और संप्रेक्षण अवधि के दौरान किसी संक्रमक केनाइन केनाइन यकृतशोध के लक्षण प्रकट नहीं करेंगे।

स्टॉक सीड विषाणु का पांच वर्षों में एक बार परीक्षण किया जाएगा और यथाविहित मानक स्थितियों के अधीन बनाए रखा जाएगा।



स्टाक सीड विषाणु को उपयुक्त उत्तक संवर्धन प्रणाली पर संरोपित किया जा सकेगा और पांच से सात दिन तक उसे ऊष्मायित किया जा सकेगा।

उत्तक संवर्धन द्रव को तब विषाणु अन्तर्वस्तु के लिए कौशिका संवर्धन पद्धति में कार्य परिणामित और अनुमापित किया जाता है। समुचित तनुकरण और पलिंग के पश्चात् सामग्री को तब तक  $20^{\circ}$  सेटीग्रेड पर भंडारित किया जाता है जब तक कि वह जम कर शुष्क न हो गए। प्रत्येक वैक्सीन मात्रा में कम से कम 3.5 10 टी सी आई डी 50 होगी।

#### 4. मानक :

(क) विवरण : शुष्क उत्पाद गुलाबी रंग की क्रीम जैसी वस्तु जल में तुरन्त घुल जाने वाला वस्तु है। पुनर्गठित वैक्सीन गुलाबी रंग का द्रव है।

(ख) पहचान : यह कुत्ते, मूषक और फरेट के गुर्दे में एकाणुक स्तर में विशिष्ट कौशिका विकृति प्रभाव उत्पन्न करती है। इसे विनिर्दिष्ट प्रतिसीरम द्वारा निष्क्रिय किया जा सकता है। कुत्तों में संरोपित करने पर विनिर्दिष्ट निष्प्रभावी प्रतिरक्षियों के विकास को उपयुक्त सीरम संबंधी परीक्षणों द्वारा प्रदर्शित किया जा सकता है।

(ग) आर्द्रता अन्तर्वस्तु : तैयार उत्पाद में आर्द्रता अन्तर्वस्तु 1.0 प्रतिशत से अधिक नहीं होगी।

(घ) अनुवर्तता परीक्षण —“विषाणु वैक्सीन के साधारण विनिबंध (मोनोग्राफ) के अन्तर्गत वर्णित रूप में अनुवर्तता के परीक्षणों का अनुपालन किया जाएगा।

(ङ) सुरक्षा परीक्षण : मूषक सुरक्षा परीक्षण—लेबल पर दी गई सिफारिश के अनुसार उपयोग के लिए तैयार किए गए वैक्सीन का परीक्षण किया जाएगा। आठ मूषकों को 0.03 मि.ली. से अन्तः मास्तिष्कीय ढंग से संरोपित किया जाएगा और 8 मूषकों को 0.5 मि.ली. से अन्तरपर्युद्ध्यों संरोपित किया जाएगा। दोनों समूहों का मात दिन के लिए संप्रेक्षण किया जाएगा।

यदि उनके संप्रेक्षण की अवधि के दौरान दोनों समूहों के मूषकों में से दो या अधिक मूषकों में प्रतिकूल प्रतिक्रिया जिसे हम उत्पाद से कारित माना जा सकता है, घटित हो तो वह बैच असन्तोषजनक है।

कुत्ता सुरक्षा परीक्षण:— 8—14 सप्ताह की आयु के दो ग्रहणशील पिल्लों में से प्रत्येक को अनुवर्त तनुकारी से पुनर्निर्मित बैच में से 10 वैक्सीनीकृत मात्रा के समतुल्य वैक्सीन से अन्तःक्षिप्त किया जाएगा और लेबल पर सिफारिश की गई रीति से इसका प्रयोग किया जाएगा तथा 21 दिन तक संप्रेक्षण में रखा जाएगा। कोई पिल्ला संप्रेक्षण अवधि के दौरान कोई प्रतिकूल प्रतिक्रिया प्रदर्शित नहीं करेगा।

(च) शक्ति परीक्षण—विषाणु अनुमापन तैयार उत्पाद के नमूनों को उपयुक्त कौशिका संवर्धन पद्धति से विषाणु अनुमाप के लिए परीक्षित किया जाएगा। इस बैच में 3.5 10 टी सी आई डी 50 से अन्यून मात्रा वाला विषाणु अनुमाप होगा।

कुत्ते में शक्ति परीक्षण :— 8—14 सप्ताह की आयु के दो स्वस्थ ग्रहणशील कुत्तों को एक वैक्सीन मात्रा से अव्यक्त रूप से अंतःक्षिप्त किया जाएगा। टीका दिए जाने के 14 दिन पश्चात् दोनों कुत्तों में से सीरम संबंधी परीक्षण द्वारा विनिर्दिष्ट निष्प्रभावन प्रतिरक्षी प्रदर्शनीय होंगे।

5. लेबल लगाना :—“विषाणु वैक्सीन” के साधारण विनिबंध (मोनोग्राफ) में अधिक्तथित रीति से लेबल लगाने की अपेक्षा के अनुरूप होगा।

6. भंडारण —शुष्क उत्पादों को  $20^{\circ}$  सेटी. या उससे कम तापमान पर भंडारित किया जाएगा। इस वैक्सीन के रेफ्रिजरेटर के हिमकारी प्रकोष्ठ में अर्थात्  $8^{\circ}$  से० पर (तापमान) लगभग 6 मास तक अपनी शक्ति कायम रखने की आशा की जाती है।

बतख प्लेग वैक्सीन :

1. परिभाषा : बतख प्लेग वैक्सीन संक्रमित कुक्कुट भ्रूण से तैयार किया गया रूपान्तरित जीवित विषाणु का निलम्बन है।

2. विनिर्मित सालमोनेता उन्मुखत मुण्डों से अभिप्राप्त मुर्गी के ताजे निषेची अंडे लेकर उष्मायित में उष्मायित किये जाते हैं। 9 दिन पुराने भ्रूण को निलंबित विषाणु के उपयुक्त तनुकरण (100 में 1) का 0.2 मि. लि. का अन्तःक्षेपण सी.ए.एम. पर किया जाएगा और संरोषण के पश्चात् 5 दिन के लिए  $37^{\circ}$  से० ग्रेड पर उष्मायित किया जाएगा और संरोषण के पश्चात् तीसरे, चौथे और पांचवें दिन मृत भ्रूण परिणामित होते हैं। भ्रूण (जिनमें मिर और टांगें नहीं होती) साफ तरली और झिल्लियां एकत्र करके एक संमिश्रक में होमेजिनाइज किया जाता है। 0.5 मि.ली. की मात्रा के एम्पुल में रखा जाता है और हिमाशुष्कित किया जाता है।

3. मानक :

(क) वर्णन : हल्का भूरा मापमान।

- (ख) पहचान : यह उत्पाद बतख को बतख प्लेग के विरुद्ध सुरक्षा प्रदान करता है।
- (ग) सुरक्षा परीक्षण : 8 से 12 सप्ताह की आयु की चार स्वस्थ बतखों को, जिनका वजन 600 ग्राम से कम नहीं है, वैक्सीन के  $10^{-1}$  तनुकरण के 1 मि. लि. से अवत्वक रूप से संरोपित किया जाता है और 14 दिनों तक उन्हें संप्रेक्षण में रखा जाता है। संप्रेक्षण की अवधि के दौरान, ये बतखें किसी प्रतिकूल प्रतिक्रिया का प्रदर्शन नहीं करेंगी।
- (घ) अनुर्वरता परीक्षण : "विषाणु वैक्सीन" के संबंध में माधारण विनिवन्ध (मोनोग्राफ) में वर्णित अनुर्वरता परीक्षण का अनुपालन किया जाएगा।
- (ङ) शक्ति परीक्षण : 8 से 12 सप्ताह की आयु की छह ग्रहणशील बतखों में से प्रत्येक को, जिनका वजन 600 ग्राम से कम न हो, वैक्सीन के  $10^{-3}$  तनुकरण के 1 मि. लि. से अवत्वक रूप से संरोपित किया जाता है। वैक्सीन की 1 मि. ली. मात्रा में न्यूनतम विषाणु अंतर्वस्तु  $10^{3.5}$  ई आई. डी. 50 होगी।
- 14 दिन के पश्चात् इन बतखों में से प्रत्येक को और सात ही 8—12 सप्ताह की आयु वाली 2 असुरक्षित नन्हीं बतखों को भी उग्र बतख प्लेग विषाणु ( $1000$  डी ई आई डी 50) के  $10^{3.5}$  तनुकरण के 1 मि. लि. से अवत्वक रूप से चैलेंज किया जाता है। असुरक्षित बतखों में बतख प्लेग के लक्षण दिखाई पड़ेंगे और वे 10 दिन के भीतर मर जाएंगी। जबकि सुरक्षित बतखों के 14 दिन के दौरान सामान्य रहेंगी।

4. लेबल लगाता.—“विषाणु वैक्सीन” संबंधी साधारण विनिवन्ध (मोनोग्राफ) में अधिकथित लेबल लगाने की अपेक्षा का अनुपालन किया जाएगा।

5. भंडारकरण.—वैक्सीन को  $15^{\circ}$  सें. ग्रे.  $20^{\circ}$  सें. ग्रे. पर भंडारित किए जाने पर वह एक वर्ष तक अपनी शक्ति बनाए रखेगा और यदि रेफ्रिजरेटर के हिमकारी प्रकोष्ठ में अर्थात्  $05^{\circ}$  सें. ग्रे. पर रखा जाएगा जो लगभग तीन मास तक अपनी शक्ति बनाए रखेगा।

पक्षी मस्तिष्कमुषुम्नाशोय वैक्सीन (जीवित) :

1. लक्षण : पक्षी मस्तिष्कमुषुम्नाशोय वैक्सीन हिम-शुष्कित होगी।
2. परिभाषा : विषाणुधारित ऊतक और भ्रूणीकृत मुर्गी के अंडों से तरल निर्वन।
3. विनिर्मिति : स्टाक सीड विषाणु का उपयोग, जिसे विशुद्ध सुरक्षित और प्रतिरक्षाजनी सिद्ध कर लिया गया हो, वैक्सीन तैयार करने में किया जाएगा—

(i) स्टाक सीड विषाणु के प्रत्येक लॉट का परीक्षण उसकी रोगजनकता आंकने के लिए कुक्कुट भ्रूण-संरोपण-परीक्षण द्वारा किया जाएगा।

(क) उत्पाद में वैक्सीन विषाणु को निष्प्रभावी करने के लिए सीड लॉट की एक मात्र की अनुर्वर उद्धान्तिष्ठन विशिष्ट प्रतिरोध के 9 आयतनों में मिला दिया जाएगा।

(ख) निष्प्रभावीकरण के पश्चात् 0.2 मि. लि. सोरम वैक्सीन मिश्रण को कम से कम 20 पूर्णतः ग्रहणशील कुक्कुट भ्रूणों में से प्रत्येक को संरोपित किया जाएगा (0.1 मि. लि. निवेश द्रव्य को 9-11 दिन की आयु वाले भ्रूणों में और 0.1 मि. लि. एन्टिडोटिक थैरा में संरोपित किया जाएगा)।

(ग) अंडों का सात दिनों के लिए मोम-परीक्षण किया जाएगा। प्रथम 24 घंटों के भीतर मृत्यु पठित होने वाले को निकाल दिया जाएगा, किंतु कम से कम 18 जीवितभ्रम भ्रूण मान्य परीक्षण के लिए संरोपणोत्तर काल में 24 घंटे तक जीवित रहेंगे। सभी भ्रूण और भ्रूणों से प्राप्त सी ए एम का, जो पहले दिन के पश्चात् ही मर जाते हैं, परीक्षण किया जाएगा।

(घ) यदि ऐसी मृत्यु या असामान्यता, जिस निवेश द्रव्य से कारित सनझा जाए, घटित होता है, तो सीड-लॉट असंतोषप्रद है।

(ii) प्रतिरक्षाजनत्वथ परीक्षण : पक्षी मस्तिष्क-मुषुम्नाशोय के ग्रहणशील चूजों का, जो एक ही आयु (8 सप्ताह) के होंगे, प्रयोग किया जाएगा। 20 चूजों को विहित मार्ग से, विषाणु की फील्ड मात्रा संरोपित की जाएगी। समान आयु के दस अनिश्चित चूजों को और चूजों समूह को वैक्सीन रहित नियंत्रण के रूप में माना जाएगा।

वैक्सीन के कम से कम 21 दिन पश्चात् नियंत्रक और टीकाकृत (चूजों) को उग्र पक्षी-मस्तिष्क मुषुम्नाशोय विषाणु से अंतः मस्तिष्कीय रूप में चैलेंज किया जाएगा और प्रत्येक को 21 दिनों तक संप्रेक्षण में रखा जाएगा। कम से कम 80 प्रतिशत नियंत्रकों में पक्षी-मस्तिष्क मुषुम्नाशोय के लक्षण दृष्टिगोचर होंगे या वे मर जाएंगे। 20 टीकाकृत में से कम से कम 19 टीकाकृत स्टाक सीड विषाणु के संतोषप्रद होने के लिए संप्रेक्षण की अवधि के दौरान विल-निकल पक्षी मस्तिष्क मुषुम्नाशोय से मुक्त रहेंगे।

## 4. मानक :

- (क) बिवरण : भूरी श्वेत पपड़ी, जो तनुकारी में सहज ही घुल जाए।
- (ख) पहचान : कम से कम 5-6 दिन की आयु के भ्रूणीकृत अंडों को (ऐसी भ्रूणियों के जिनका पक्षी मस्तिष्क सुपुम्नाशोथ में संक्रमित होने का कोई पूर्ववृत्त न हो) अनुकृत वैक्सीन के 0.1 मि.ली. से पीतक कोप में संरोपित किया जाएगा और उष्मायक में रखा जाएगा और तब अंडयन कक्ष (श्रुडर) में स्थानांतरित कर दिया जाएगा जहां उन्हें अंडे सेने दिया जाता है। अंडजोत्पन्न कुक्कुट शावकों को सात दिनों तक बैठने दिया जाएगा। अंडजोत्पन्न कुक्कुट शावकों में से 50 प्रतिशत से अधिक कुक्कुट शावक इस अवधि के अन्त में विशिष्ट लक्षण (दुर्बल टांगें, टांगें पक्षाघात कंपन आदि) प्रकट करेंगे।
- (ग) आर्द्रता अन्तर्वस्तु 1 प्रतिशत से अधिक नहीं होगा।
- (घ) अनुवर्तता परीक्षण : “विषाणु वैक्सीन के साधारण विनिबंध (मोनोग्राफ) के अधीन वर्णित अनुवर्तता संबंधी परीक्षण का अनुपालन करेगा।
- (ङ) सुरक्षा परीक्षण : कम से कम 25 पक्षी मस्तिष्क-सुपुम्नाशोथ ग्रहणशील पक्षियों (6-10 सप्ताह की आयु के) को अनुशंसित मार्ग से 10 फील्ड मात्रा से टीकाकृत किया जाएगा और 21 दिन तक प्रतिदिन संप्रेक्षणाधीन रखा जाएगा। यदि संप्रेक्षण की अवधि के दौरान वैक्सीन के परिणाम-स्वरूप प्रतिकूल प्रतिक्रियाएं घटित हों तो यह वैक्सीन बैच असन्तोषप्रद है।
- (च) शक्ति परीक्षण :

(i) वैक्सीन को विषाणु अंतर्वस्तु के लिए अनुमापित किया जाएगा। कोई बैच निर्मुक्त किए जाने के योग्य हो इसके लिए उससे कम से कम  $10^{2.5}$  ई आई डी 50 प्रति मात्रा का विषाणु अनुमापन होगा।

(ii) कम से कम 10 ग्रहणशील कुक्कुट शावकों को निर्धारित मार्ग से वैक्सीन की फील्ड मात्रा द्वारा टीकाकृत किया जाएगा और उसी बैच और स्रोत के 10 कुक्कुट शावकों को अटीकाकृत नियंत्रक के रूप में रखा जाएगा।

वैक्सीन के कम से कम 21 दिन पश्चात् दोनों समूहों को उग्र पक्षी मस्तिष्कसुपुम्नाशोथ विषाणु से अन्तः मस्तिष्कीय रूप में चैलेंज किया जाएगा और 21 दिनों तक संप्रेक्षणाधीन रखा जाएगा। 10 नियंत्रकों में से कम से कम

8 में पक्षी मस्तिष्क सुपुम्नाशोथ के पहचान योग्य लक्षण या विक्षत विकसित होंगे और 10 टीकाकृत कुक्कुटों में से कम से कम 8 सामान्य रहने चाहिए।

5. लेबल लगाता :—“विषाणु वैक्सीन” संबंधी साधारण विनिबंध (मोनोग्राफ) में अधिकतम रोति में लेबल लगाने की अपेक्षा का अनुपालन किया जाएगा।

मेरेक के रोग का वैक्सीन (जीवित) :

1. तक्षण : टर्की वैक्सीन का परिमर्ष विषाणु एच.बी.टी. वैक्सीन (जीवित)।
2. परिभाषा : मेरेक रोग वैक्सीन कौशिक(मुक्कन द्रव, जिसमें जीवित विषाणु हैं, का निलंबन है।
3. विनिमिति : स्टाक सीड विषाणु का प्रयोग, जिसे शुद्ध निगपद और पक्षी जातियों में प्रतिरक्षाजनी मावित किया जा चुका हो, वैक्सीन उत्पादन के लिए सीड विषाणु तैयार करने के लिए किया जाएगा।

(i) सुरक्षा परीक्षण : स्टाक सीड विषाणु, जैसा कि निम्नलिखित प्रक्रिया द्वारा अवधारित किया जाए, चूजों के लिए अरोगजनक होगा :

कम से कम 25 चूजों के समूहों का प्रयोग जिनमें प्रत्येक की आयु एक दिन की होगी, किया जाएगा। ये चूजे एक ही स्रोत और बैच के होंगे और ये मेरेक रोग के प्रति ग्रहणशील होंगे और उन्हें पृथक्-पृथक् समूहों में रखा जाएगा।

समूह 1—प्रत्येक चूजा, जितना वैक्सीन की एक मात्रा (खुराक) में अंतर्विष्ट हो उसके 10 गुना के 0.2 मि.ली. जीवनश्रम विषाणु से अंतर्प्रेणीय मार्ग से अंतःक्षिप्त किया जाएगा।

समूह 2—नियंत्रकों के रूप में कार्य करेंगे। प्रत्येक समूह में कम से कम 20 चूजे अंतःक्षेपण के पश्चात् चार दिन तक जीवित रहेंगे। ऐसे सभी चूजों को, जिनकी मृत्यु हो जाती है, शव परीक्षा की जाएगी और मेरेक रोग के विक्षत और मृत्यु के कारणों की जांच की जाएगी। परीक्षण का निर्णय निम्नलिखित के अनुसार किया जाएगा।

120 दिन की आयु प्राप्त होने पर दोनों समूहों के शेष चूजों का बजन किया जाएगा, उन्हें मारा जाएगा और उनके शव की परीक्षा की जाएगी। यदि इन दो समूहों में से प्रत्येक समूह के कम से कम 15 चूजे 120 दिन की अवधि तक जीवित नहीं रह जाएं या यदि समूह 1 के किसी एक भी चूजे की शव परीक्षा की जाने पर उसे मेरेक रोग का घोर विक्षत हो या यदि 120 दिन की अवधि की समाप्ति पर समूह 1 के चूजों का औसत शरीर भार महत्वपूर्ण रूप से (आकड़ों में) समूह 2 के औसत से भिन्न हो, तो स्टाक सीड विषाणु का लाट असन्तोषप्रद है।



(ii) शुद्धता परीक्षण :—यह परीक्षण चूजों में किया जाएगा और टर्की-परिसर विषाणु के विशिष्ट विक्षतों से भिन्न कोई विक्षत प्रकट नहीं होगा।

(iii) प्रतिरक्षाजनक परीक्षण : साठ दिन की आयु के ग्रहणशील चूजों का प्रयोग किया जाता है। इनमें से तीस चूजों को ऐसी मात्रा में जो अंतिम वैक्सीन की फील्ड मात्रा के बराबर हो, सोड विषाणु से संग्रहित किया जाएगा और 14-21 दिन के पश्चात् उग्र मेरेक रोग-विषाणु से अंतः-हृदयीय मार्ग से अन्य 30 वैक्सीन न किए जाए नियंत्रक-चूजों के साथ-साथ चैलेंज किया जाएगा। संप्रेक्षण अवधि की समाप्ति पर जब चूजे 20 सप्ताह की आयु के हो जाएं, तब जीवित चूजों का मेरेक रोग विषाणु प्रतिरक्षक की उपस्थिति का पता करने की दृष्टि से सीरम परीक्षण और मेरेक रोग के विक्षतों का मरणोत्तर शव-परीक्षण किया जाएगा।

किसी भी मृत पक्षी का पूर्ण परीक्षण किया जाता है और मृत्यु के कारण शवपरीक्षा/हिरटोपैथोलॉजिकल परीक्षा द्वारा सुनिश्चित किया जाता है। सभी जीवित चूजे रूढ़ पक्षियों को मार दिया जाता है और उनकी शवपरीक्षा की जाती है। संरक्षण इन्डेक्स (पीआई) का अवधारण निम्नलिखित प्रक्रिया द्वारा किया जाता है :—

1. एम डी विक्षत की संख्या  $\times 100$

1. प्रतिशत एम डी

एम डी विक्षत की संख्या  $\times$  उत्तरजीवित की संख्या  
(प्रभावी संख्या)

2. पीआई :—नियंत्रकों में प्रतिशत एम डी-टी का कुल में प्रतिशत  
एम डी  $\times 100$

नियंत्रकों में प्रतिशत एम डी

मास्टर सोड विषाणु से कम से कम अक्षी प्रतिशत की पीआई होना चाहिए।

नियंत्रक समूह में से चूजों के 80 प्रतिशत विनिर्दिष्टतः बीमार हो जाएंगे यदि 80 प्रतिशत से अधिक टीकाकृत चूजों में कोई लक्षण या मेरेक रोग के लक्षण प्रकट नहीं होते हों, तो सोड विषाणु को पर्याप्त रूप से प्रभावशाली माना जाता है और वैक्सीन उत्पादन के लिए प्रयोग किया जा सकता है।

सोड विषाणु की बतौर मृग तंतुपनेरक कोश कोशिका बल्लर चूजा तंतुफोरक या किसी अन्य समुचित कोशिका कल्चर में (विशिष्ट रोगजनक मुक्त एम.पी.एफ. समूह) संचारित किया जाता है और जब उच्चतम संक्रमण स्तर प्राप्त हो जाए तो कोशिका एकाणुक स्तर को निम्नलिखित संघटकों वाले जीत तनुधारकों में निर्वहण कर दिया जाता है।

एम.पी.जी.ए. स्थायीकारक :—

0.218 एम. सुकरोज

0.0038 एम. मोनासोडियम फास्फेट

0.0072 एम. डाईपोटेनियम फास्फेट

एल. मानोमेडियम ग्लूटनेट 0.0049 एम

(एक प्रतिशत बोवाइन एल्बुमिन (प्रभाजवी)

0.25 प्रतिशत ई डी.टी.ए. (मिज निसपंदन द्वारा अनुवर्तित और  $10^\circ$  में पर भंडारित) विषाणु को 3 मिनट के परावर्तन द्वारा (प्रति 30 सेकंड के पश्चात् रोकते हुए)  $(100 \text{ एम ए पर कोशिका से निर्गुण किया जाता है और } 60^\circ \text{ में पर अधिमानतः शैल्य गणन में सुविधाजनक आयतन में हिमशुक्ति किया जाता है। प्रति एम्पूल वायल की मात्रा को हिम शुक्ति उत्पाद का तत्स्थानी एकाणुक स्तरीय कोशिका में प्लेक कारक एककों (पी.एफ.यू.) के निर्बंधनों के अनुसार अनुमानित करने के पश्चात् आकलित किया जाएगा।$

4. मानक :—

(क) वर्णन : कोशिका निर्मुख हिमशुक्ति एच.वी.टी. वैक्सीन का रंग सम रूप से भूरा दिखाई पड़ता है और विनिर्दिष्ट तनुधारी में आसानी से घुल जाने वाला है।

(ख) पहचान : समुचित कोशिका कल्चर पद्धति में संग्रहित की जाने पर यह वैक्सीन टर्की की हर्पिस विषाणु की विशिष्ट किस्म के कोशिका विकृति प्रभाव करेगी, टर्की का हर्पिस विषाणु के विशिष्ट प्रति सीरम कोशिका विकृति प्रभाव को निष्क्रिय कर देगी।

(ग) आर्द्रता अन्तर्वस्तु :—आर्द्रता अन्तर्वस्तु एक प्रतिशत से अधिक नहीं होगी।

(घ) अनुवर्तता परीक्षण :—“विषाणु वैक्सीन” साधारण विनिर्बंध (मोनोप्राफ) में विहित किए गए परीक्षण का अनुपालन करेगा।

(ङ) सुरक्षा परीक्षण :—कम से कम से 25 चूजों को, जिनकी आयु एक दिन की हो, अंतः पेक्षीय मार्ग से वैक्सीन की फील्ड मात्रा के इस गुने से अन्तः क्षिप्त किया जाएगा। ऐसे चूजों को 21 दिन तक प्रत्येक दिन संप्रेक्षित किया जाएगा। इस अवधि के दौरान मरने वाले कुक्कुट शावकों की परीक्षा की जाएगी। मृत्यु का कारण अवधारित किया जाएगा और परिणाम को निम्नलिखित रूप में अभिलिखित किया जाएगा :

(i) यदि कम से कम 20 चूजे भी संप्रेक्षण अवधि तक जीवित नहीं रहते हुए तब यह परीक्षण अनिर्णायक होगा।

(ii) यदि किसी रोग के विक्षत और मृत्यु के कारण सोधे वैक्सीन के फलस्वरूप हो तो वैक्सीन असंतोष-प्रद है।

(च) शक्ति परीक्षण :—तमूने का अनुमान कोशिका संवर्धन पद्धति में किया जाएगा। एक संतोषप्रद बैच में प्रति मात्रा निर्गुण किए जाने पर कम से

कम 1500 प्लेक फॉर्मिंग यूनिट्स (पी.एफ.यू.)  
और अवसान अवधि तक कम से कम 1000  
पी.एफ.यू. बना रहेगा।

5. लेबल लगाना :—“विषाणु वैक्सीन” विषयक सामान्य विनिर्बंध (मोनोग्राफ) में यथाअधिकथित लेबल लगाने की अपेक्षाओं का अनुपालन किया जाएगा।

6. भंडारकरण और अवसान की तारीख :—हिमशुष्कित मुक्त एच.वी.टी. वैक्सीन को छह मास के लिए 4° सें० पर भंडारित किया जा सकता है।

गोट पोक्स वैक्सीन जीवन कोशिका (संवर्धन)

1. पर्याय : गोट पोक्स वैक्सीन (जीविन) तनुकृत गोट पोक्स वैक्सीन।

2. परिभाषा :—गोट पोक्स वैक्सीन हिम शुष्कित निर्मित है जिसे (शावकवृद्धाण/कोशिका संवर्धन में तनुकृत गोट पोक्स विषाणु बढ़ाकर तैयार किया जाता है।

3. निर्मिति :—रोग से मुक्त शावक के प्रारंभिक गुर्दे वृषण कोशिका संवर्धन का उपयोग किया जाता है। सीड विषाणु से संक्रमित एकाणुकपरत को 37° सें० पर उष्मापित किया जाता है। इस संवर्धन में हिमीकरण और हिम द्रवण का संलवन संक्रमण के पश्चात् 6-7 दिन में तीन चक्रों में लेने हैं जब 80 प्रतिशत से अधिक कोशिकाएं सी०पी०ई० दक्षित करती हैं। यह घोल 2° सें० पर भंडारित कुडा-करकट हटाने के लिए 10 मिनट तक 1000 आर०पी०एम० पर अपकेन्द्रण किया जाता है। यह 5 प्रतिशत दुग्ध एल्बुमिन जलापघटनी और 10 प्रतिशत सुक्रोस मिला देने के पश्चात् हिम शुष्कित किया जाता है।

4. मानक :

(क) वर्णन—हल्का पीला रंग।

(ख) पहचान—उत्पाद गोट पोक्स से संरक्षण प्रदान करता है।

(ग) आर्द्रता अन्तर्वस्तु :—आर्द्रता अन्तर्वस्तु 1.0 प्रतिशत से अधिक नहीं होगी।

(घ) सुरक्षा परीक्षण :

(i) प्रयोगशाला पशु : छह चूहे, 3 गिनी पिग और 3 खरगोश को क्रमशः 0.2 मिलि में आन्तर-पंचुदिन और 0.5 मि०लि० और 1.0 मि०लि० से अवत्वक रूप से वैक्सीन की 10 भरी हुई मात्रा से संरोपित किया जाएगा। 10 दिन की संप्रेक्षण अवधि के दौरान संरोपित पशु सामान्य रहेंगे।

(ii) गोट : छह से आठ मास की आयु के ग्रहणशील गोटों को उनके पशुवक्षीय क्षेत्र में अवत्वक मार्ग से वैक्सीन की एक सौ फील्ड मात्रा द्वारा संरोपित

किया जाएगा। संरोपित पशुओं में दो से तीन से०मि० से अधिक स्थानीय अभिक्रिया विकसित नहीं होगी। इन पशुओं का संप्रेक्षण 10 दिनों तक किया जाएगा।

(उ) अनुर्वरता परीक्षण : “विषाणु वैक्सीन” संबंधी माधारण विनिर्बंध (मोनोग्राफ) के अवीन वर्णित, अनुर्वरता परीक्षण का अनुपालन किया जाएगा।

(च) कोशिका संवर्धन में अनुमापन चार यादृच्छिक चयनित नमूनों की शावकों के गुर्दे की कोशिका संवर्धनों में प्रत्येक तनुकरण के लिए 5 ट्यूब को प्रयोग करते हुए संरोपित किया जाएगा। अनुमापन की पुनरावृत्ति तीन बार की जाएगी। एक हजार टी०सी०आई०डी० 50 का प्रयोग फील्ड मात्रा के रूप में किया जाता है।

(छ) शक्ति परीक्षण : तीन ग्रहणशील गोटों (जिनकी आयु 8-10 मास की हो) को फील्ड मात्रा के 1/10वां और तीन ग्रहणशील गोटों (जिनकी आयु 8-10 मास की हो) अवत्वक रूप में एक फील्ड मात्रा से संरोपित किया जाता है। संरोपित गोटों के साथ तीन अंतःसंबंध नियंत्रण भी रखे जाते हैं। इन पशुओं को 14 दिनों तक संप्रेक्षण में रखा जाता है और उसके शरीर में तापमान प्रतिदिन अभिलिखित किया जाता है। टीकाकृत पशु कोई तापीय स्थानीय या व्यापकीकृत प्रतिक्रिया अभिवर्धित नहीं करेंगे। दिन संक्रमणोत्तर काल में टीकाकृत और नियंत्रण पशुओं का आन्तर चर्मीय मार्ग में उग्रगोट पोक्स विषाणु के 10,000 आई०डी० 50 से चैलेंज किया जाता है। इन गोटों का तापमान 14 दिन की अवधि तक अभिलिखित किया जाता है। टीकाकृत गोटों में कोई स्थानीय या व्यापकीकृत अभिक्रिया विकसित नहीं होगी जब कि नियंत्रण गोटों में उच्च ज्वर, स्थानीयकृत अभिक्रिया या कुछ मामलों में व्यापकीकृत प्रतिक्रिया भी विकसित होगी।

5. लेबल लगाना :—“विषाणु वैक्सीन” के सामान्य विनिर्बंध (मोनोग्राफ) में यथाअधिकथित लेबल लगाने की अपेक्षाओं का अनुपालन किया जाएगा।

6. भंडारकरण और अवसान की तारीख : ऐसी आशा की जाती है कि यदि वैक्सीन को 15° सें० से 20° सें० पर भंडारित किया जाता है तो 12 मास तक अपनी शक्ति रख सकती है और यदि 2° सें० से 4° सें० पर भंडारित किया जाता है तो तीन मास तक अपनी शक्ति बनाए रख सकती है।

मेप पोक्स वैक्सीन (निष्कृत)

1. पर्याय :—प्ररूपिक जेल मेप पोक्स (वैक्सीन)

2. परिभाषा : मेप पोक्स वैक्सीन ऐसा उत्कृष्ट वैक्सीन है जो निम्नलिखित प्ररूपिक जेल द्वारा अभिक्रियित है ।

3. निर्मिति : 8—12 मास की आयु वाले स्वस्थ ग्रहणशील भेड़ों को किसी उग्र मेप पोक्स विषाणु के 1:100 तनुकरण के 500 मि. लि. से अवत्वक रूप से संरोपित किया जाता है । सात से आठ संरोपणोत्तर दिन को उदर का चर्मोत्थ उदर सहित ले लिया जाता है । संक्रमित उत्तकों को उभय प्रतिरोधी फास्फेट में (पी. एम. 7.1—7.6 में 10 प्रतिशत सान्द्रता में समांगीकृत किया जाता है जिसे विषाणु के निचोड़ने के पश्चात् अतुल्यक जेल और बफर (उभय प्रतिरोधी) में निम्नलिखित अनुपात में मिला दिया जाता है :—

6 प्रतिशत एन्समीनियम हाइड्रोक्साइड जेल	50 प्रतिशत
फास्फेट बफर (पी. एच. 7.6)	35 प्रतिशत
10 प्रतिशत निलंबन	15 प्रतिशत

तत्पश्चात् इसे प्ररूपित कर दिया जाता है और 20°—25° से/10° से. पर विभिन्न अवधि तक रखा जाता है ।

#### 4. मानक

- (क) विवरण: यह भूरा श्वेत निलंबन है । भंडारकरण की अवधि के दौरान जेल पेदी में बैठ जाता है । निलंबन की ऊपरी परत स्वच्छ हो जाती है ।
- (ख) पहचान: यह उत्पाद मेप को मेप पोक्स के विरुद्ध संरक्षण प्रदान करता है ।
- (ग) सुरक्षा परीक्षण: यह दो श्वेत चूहों को 0.2 मि. लि. से एक गिनी पिग को 1.0 मि. लि. से और एक खरगोश को 3.0 मि. लि. वैक्सीन से संरोपित किया जाता है । इन पशुओं को 10 दिन के लिए रोग लक्षण रूप में स्वस्थ रखना चाहिये ।
- (घ) अनुर्वरता परीक्षण: यह प्रायिक जीवाणुविक तर्क-संगत माध्यम पर वैक्सीन का बीजारोपण करके किया जाता है । प्लेटों और ट्यूबों को 10 दिन के लिए 37° से पर उष्मापित किया जाता है । यदि रोगजनक जीवाणु पाये जाते हैं, तो वैक्सीन को अस्वीकृत कर दिया जाता है जबकि अरोगजनक जीवाणु को वैक्सीन सहित क्षेत्रीय उपयोग के लिये स्वीकार कर लिया जाता है ।
- (ङ) शक्ति परीक्षण: यह परीक्षण 4 अप्रतिरोधी ग्रहण-शील भेड़ों, अधिमानतः 1—2 वर्ष के विदेशी नस्ल को इस वैक्सीन के 3 मि. लि. से अवत्वक रूप में उसके उदर में संरोपित कर दिया जाता है ।

संरोपण के पश्चात् टीकाकृत भेड़ों को तीन नियंत्रणों के जिन्हें प्रत्येक को 0.1 मि. लि. उग्र विषाणुओं के साथ जिसमें 200 संक्रामक मात्रा अंतर्विष्ट होते हैं 15 दिन तक उनकी मूँछ के नीचे आन्तरचर्मीय रूप से चूँच कर दिया

जाता है । भेड़ों का 10 दिनों तक संप्रेषण किया जाता है और उनको त्वचा अभिक्रिया को अभिलिखित किया जाता है । वैक्सीन को शक्तिमान समझा जाता है, यदि सभी टीकाकृत मेप उष्मीय या स्थानीय त्वचा अभिक्रिया प्रदर्शित नहीं करते हैं । वैक्सीन तब भी शक्तिमान है यदि 3 टीकाकृत पशुओं में कोई अभिक्रिया विकसित नहीं होती और एक मेप विफल त्वचा अभिक्रिया दर्शित करता है जबकि तीन नियंत्रणों में से कम से कम 2 में संरोपण के स्थल पर विशेष प्रकार की मेप पोक्स अभिक्रिया विकसित हो जाती है ।

5. लेबल लगाना: “विषाणु वैक्सीन” विषयक साधारण विनिर्बंध (मोनों ग्राफ) में यथा अधिकशक्ति लेबल लगाने की अपेक्षाओं का अनुपालन किया जायेगा :

6. भंडारकरण: वैक्सीन का भंडारकरण 4° से. से 5° से. ताप पर किया जायेगा । यह उक्त ताप पर 12 मास तक ठीक बना रहना है ।

#### मेप पोक्स वैक्सीन (जोड़ित कोशिका संवर्धन)

1. पर्याय: मेप पोक्स वैक्सीन (जोड़ित) क्षीण मेप पोक्स वैक्सीन ।

2. परिभाषा: मेप पोक्स वैक्सीन हिमशुद्धित निर्मिति है जिसे मेमने के गुर्दे/वृषण कोशिका संवर्धन में क्षीण में विषाणु की वृद्धि में तैयार किया जाता है ।

3. निर्मिति—रोग से मुक्त मेमनों के गुर्दे/वृषण से तैयार प्रारंभिक कोशिका संवर्धन का प्रयोग किया जाता है । सीढ़ विषाणु से संक्रमित एकाणुपरत को 37° से पर उष्मापित किया जाता है । इस संवर्धन से हिमीकरण और हिमद्रवण का संलवन संक्रमण के पश्चात् 6—7 दिन में तीन चक्रों में लेते हैं जब 80 प्रतिशत से अधिक कोशिकाएं सी. पी. ई. दर्शित करती हैं । यह 20 से. पर भंडारित होने से पूर्व सेलचर कुड़ा कड़कट हटाने के लिये 10 मिनट तक 1000 आर. पी. एम. पर अपकेन्द्रण किया जाता है । यह घोल 5 प्रतिशत दुग्ध एन्सुमिन जलपघटनी और 10 प्रतिशत सुक्रोस मिला देने के पश्चात् हिम शुद्धित किया जाता है ।

#### 4. मानक:

- (क) वर्णन: हल्का पीला रंग ।
- (ख) पहचान: यह उत्पाद मेप को मेप पोक्स से संरक्षण प्रदान करता है ।
- (ग) श्राव्यता अन्तर्वस्तु: श्राव्यता अन्तर्वस्तु 1.0 प्रतिशत से अधिक नहीं होनी चाहिये ।
- (घ) सुरक्षा परीक्षण:
  - (i) छह चूहे, 3 गिनी पिग और 3 खरगोश को क्रमशः 0.2 मि. लि. से आन्तरपर्युद्धित और 0.5 मि. लि. और 1.0 मि. लि. से अवत्वक रूप से वैक्सीन से अंतर्विष्ट 10 फील्ड मात्रा से संरोपित किया जायेगा । 10 दिन की संप्रेषण अवधि के दौरान संरोपित पशु सामान्य रहना चाहिये ।

- (ii) 2 ग्रहणशील मेषों में से प्रत्येक को पश्चकक्षीय क्षेत्र में वैक्सीन की एक सौ फील्ड मात्रा को अवत्वक रूप से संरोपित किया जाता है। संरोपित मेषों में 2 से 3 सें. मी. की स्थानीय अभिक्रिया से अधिक कुछ भी विकसित नहीं होगा।

(इ) अनुर्वरता परीक्षण—“विपाणु वैक्सीन” संबंधी साधारण विनिबंध (मोनोग्राफ) के अधीन वर्णित अनुर्वरता परीक्षण का अनुपालन किया जाएगा।

(च) कौशिका संवर्धन में अनुमापन अनुरक्षण माध्यम में चार यादृच्छिक चयनित नमूनों को पुनर्गठित करके प्रत्येक अनुकरण के लिए पांच नलिकाओं का प्रयोग करते हुए मेषों के गुर्दे में संरोपित किया जाता है। अनुमापन तीन बार किया जाएगा। टी. सी. आई. डी. 50 की संगणना रोड और अम्युण्ड पद्धति से की जाएगी एक हजार टी सी आई डी 50 को एक फील्ड डोज के रूप में संगणित किया जाता है।

(छ) शक्ति परीक्षण : 8-10 मास को आयु के तीन ग्रहणशील मेषों को फील्ड मात्रा के 1/10 वें अंश से 3 ग्रहणशील मेषों को एक फील्ड मात्रा से अवत्वक रूप से संरोपित किया जाता है। संरोपित मेषों के साथ तीन अंतः संबंध नियंत्रक भी रखे जाने हैं। इन पशुओं को 14 दिनों की अवधि के लिए संप्रेक्षण में रखा जाता है और उनका तापमान प्रतिदिन अभिलिखित किया जाता है। टीकाकृत पशु कोई तापीय स्थानीय या व्यापकीकृत अभिक्रिया दर्शित नहीं करेंगे। 21 दिन संक्रमणोत्तर काल में टीकाकृत और नियंत्रण पशुओं को आन्तरचर्मीय मार्ग से उग्रमेष पोक्स विपाणु के 10,000 आई डी 50 से चैलेंज किया जाता है। इन मेषों का तापमान 14 दिन की अवधि तक अभिलिखित किया जाता है। टीकाकृत मेषों में कोई स्थानीय या व्यापकीकृत अभिक्रिया विकसित नहीं होगी जबकि नियंत्रण मेष में उच्च ज्वर स्थानीकृत अभिक्रिया या कुछ मामलों में व्यापकीकृत अभिक्रिया भी विकसित हो सकती है।

5. लेबल लगाना : “विपाणु वैक्सीन” के साधारण विनिबंध (मोनोग्राफ) में यथाप्रशिक्षित लेबल लगाने की अपेक्षाओं का अनुपालन किया जाता है।

6. भंडारकरण और अवमान की तारीख : ऐसी आशा की जाती है कि यदि वैक्सीन को 15° से. से 20° से. पर भंडारकृत किया जाता है तो 12 मास तक अपनी शक्ति रख सकती है और 2 से. से. 4 से. ग्रेड भंडारकृत किया जाता है तो तीन मास तक अपनी शक्ति बनाए रख सकती है।

उत्तरक संवर्धन पशुमहामारी वैक्सीन :

1. पर्यायः कौशिका संवर्धन पशुमहामारी वैक्सीन।

2. परिभाषा— उत्तरक संवर्धन पशुमहामारी वैक्सीन जोवित उपात्तरिक पशुमहामारी विपाणु का हिमशुद्धित

निमित्त है जिसे उत्तरक संवर्धन में अनुकुलित और संचारित किया जाता है।

3. निर्मित गुर्दा कौशिकाओं के (गोत्रातीय अथवा अन्य कोई समुचित पशु (प्राथमिक या द्वितीय एकाणु) परंतु संवर्धन के जो किसी विकृतिजन्य परिवर्तनों से स्वस्थ पशु के गुर्दे से किए गए हों, प्रयोग किया जाएगा जब द्वितीय संवर्धन का प्रयोग किया जाता है तो उनमें मूल आकृति और केन्द्रक प्ररूप बना रहेगा। पूर्वी अफ्रीका पशु चिकित्सा अनुसंधान संगठन द्वारा विकसित पशुमहामारी विपाणु का केवटेंगों अभिरंजक पैसज स्तर 99वीं से 100वीं पैसज के बीच का प्लोराइट का अभिरंजक प्रयोग किया जाएगा। एक कोफ (पोशावक) के गुर्दे से या क्रमिक रूप से संवर्धित गोत्रातीय गुर्दा कौशिकाओं (जो प्राथमिक में 10 पैसज अधिक दूर नहीं होंगे) से निर्मित कौशिका एकाणुकरण संवर्धनों से संवर्धक विपाणु को जो उर्मा बाँज में संरोपित और एक साथ ही संवर्धक होगा, उपर्युक्त परिभाषा में स्थानीकारी हिमशुद्धित किया जाएगा।

4. मानक : विपाणु वैक्सीन के साधारण मानकों की अपेक्षाओं को पूरा करेगा।

(क) वर्णन : एक हलके पीले रंग वाली पर्याप्त जो दूतशीलन सेलाईन या उभय प्रतिरोधी सेलाईन में तरल धुल जाए।

(ख) पहचान : (i) यह उग्र या बकरे को पशुमहामारी विपाणु के परवर्ती आक्रमण से पशुओं की सुरक्षा करता है।

(ii) यह उत्तरक संवर्धन उन पद्धतियों के अनुमापन योग्य है जो इस विपाणु का वृद्धि की संतुलित करने को सक्षम है। इस परीक्षण को कम से कम तीन पृथक-पृथक अवसरों पर विभिन्न पशुओं से व्युत्पन्न कौशिका संवर्धन का प्रयोग करने हुए किया जाएगा।

(iii) विशिष्टता परीक्षण समुचित निष्प्रभावीकरण सीरम का प्रयोग करके किया जाएगा।

(ग) अनुर्वरता परीक्षण : प्रत्येक बैच का परीक्षण जीवाणिक और अवकांतिक अनुर्वरता के लिए किया जाएगा जैसा कि “विपाणु वैक्सीन” के लिए साधारण विनिबंध (मोनोग्राफ) में दिया गया है।

(घ) अहानिकर परीक्षण : यह परीक्षण प्रत्येक बैच पर कम से कम दो गिनी पिगों में और छह चूहों में किया जाएगा। कम से कम दो सप्ताह तक इन पशुओं को किसी अनुचित प्रक्रिया के लिए संप्रेक्षणाधीन रखा जाएगा।

(ङ) सुरक्षा और प्रभावोत्पादकता परीक्षण : सुरक्षा और प्रभावोत्पादकता का परीक्षण 4 से अत्यंत एम्प्लों को यादृच्छिक रूप से ली गई सम्मिलित पुनर्गठित

अन्तर्वस्तुओं का प्रयोग करके किया जाएगा। यह वैक्सीन कम से कम दो ऐसे ग्रहणशील पशुओं में से प्रत्येक को जो विनिर्दिष्ट प्रतिरक्षी से मुक्त हो अव्यक्त रूप से अंतर्क्षिप्त जिसमें 100 फील्ड मात्रा से न्यून मात्रा अन्तर्विष्ट नहीं होंगी और दो और पशुओं के ऐसे एक फील्ड मात्रा (जो 1000 टी सी आई डो 50 के आधार पर एक फील्ड मात्रा के रूप में प्रकल्पित हो) का 1/10वां भाग अंतर्क्षिप्त किया जाएगा।

इन पशुओं को कम से कम दो वैक्सीन न किए गए पशुओं के साथ रखा जाएगा और तीन सप्ताह की अवधि के लिए संप्रेक्षणाधीन रखा जाएगा वैक्सीन सुरक्षा परीक्षण पूरा करके किया जाएगा यदि इन पशुओं में अप्राधिक रोग लक्षण प्रतिक्रिया प्रदर्शित नहीं करते हैं। तीन सप्ताह के अन्त में सभी चारों पशुओं को और दो सहवासी पशुओं के साथ उग्र पशु महामारी विषाणु के  $10^4$  ए. सी. आई. डो 50 के अत्युन्नत मात्रा में चैलेंज किया जाएगा। वह वैक्सीन शक्ति/प्रसाद्योत्पादकता परीक्षण पूरा करेगा यदि सहवासी पशुओं में पशुमहामारी विकसित हो जाती है तथा सभी वैक्सीन किए गए पशु सामान्य रह जाते हैं।

5. लेबल लगाना : "विषाणु वैक्सीन" के साधारण विनिबंध (मोनोग्राफ) का अनुपालन किया जाएगा। एक लाट में प्रत्येक एम्पूल में कम से कम 50 प्रतिशत एम्पूलों पर निम्नलिखित मुद्रित होगा:—

- (i) टी सी आर पी वैक्सीन
- (ii) बैच सं. वर्ष महिना
- (iii) प्रयोग के साधारण अनुदेश

6. भंडारण : यदि वैक्सीन  $-20^\circ$  से. और  $+4^\circ$  से. पर भंडारित की जाए तो क्रमशः 2 वर्ष और 6 मास के लिए अपना अनुमापन बनाए रखेगी।

कैनाइन डिस्टेम्पर वैक्सीन

1. पर्याय : कैनाइन डिस्टेम्पर वैक्सीन (जीवित) हिमशुष्कित
2. परिभाषा : यह एक हिमशुष्कित है जो या तो ऐसे बुक्कट भ्रूण जिसमें अंडे हों और जो कैनाइन डिस्टेम्पर विषाणु में अनुकूलित हों, उनको से, या जिसमें उपान्तरित विषाणु को संवर्धित किया गया है, विभिन्नित किया जाता है।

3. निर्माण :—कैनाइन डिस्टेम्पर वैक्सीन को विनिर्माण ऐसे विषाणु से किया जाता है जिसमें कोशिका संवर्धन तरल या संक्रमित जरायु-अपरापोपिका अिली है। वैक्सीन की निर्माण के लिए केवल ऐसे स्टॉक बीज (सीड) विषाणु का प्रयोग किया जाएगा जो शुद्ध सुरक्षित और प्रतिरक्षाजनी साबित हो चुका हो चूजा भ्रूण में संचारित स्टॉक बीज (सीड) विषाणु की रोगजनकता का परीक्षण चूजा भ्रूण परीक्षण द्वारा

किया जाएगा। विषाणु को निष्प्रभावित करने के लिए विषाणु का एक आपतन विनिर्दिष्ट अनुवर्तन उष्मानुकूल सीरम के 9 आपतन के साथ मिला दिया जाएगा। मिश्रण को (9 से 11 दिन की आयु वाले) बीन चूजे भ्रूण के (सी ए एम पर 0.1 मि. लि. और प्लेन्टोहक सेक में 0.1 मि. लि. के साथ) संगोपित कर दिया जाएगा। भ्रूणीकृत अंडों को 7 दिनों तक प्रतिदिन कैंडिल किया जाएगा। 24 घंटों के दौरान ऐसे भ्रूणों को जिनकी मृत्यु होती है हटा दिया जाएगा। ऐसे भ्रूण के सी ए एम एस परीक्षण किए जाएंगे जिनकी 24 घंटों के पश्चात् मृत्यु हो जाती है। जब आवश्यक हो तो मृत्यु का कारण आधारित करने के लिए भ्रूणों का उपसंवर्धन किया जाएगा संगोपण के 7वें वे दिन ऐसे परीक्षणों को परिणामित करना होगा।

उत्तरजीवी भ्रूण और उनके सी ए एम एस का परीक्षण किया जाता है यदि असामान्य मृत्यु संगोपण के कारण हुई हो तो बीज (सीड) विषाणु असन्तोष-प्रद है।

3. प्रतिरक्षाजनक परीक्षण :—8—14 सप्ताह की आयु के 13 ग्रहणशील श्वानों (दस वैक्सीन किए गए और 3 नियंत्रक) का प्रयोग इस परीक्षण के लिए किया जाएगा। इन पशुओं में से रक्त के नमूने लिए जाते हैं और कैनाइन डिस्टेम्पर के विरुद्ध प्रतिरक्षियों के लिए पृथक-पृथक नमूनों का परीक्षण किया जाता है। दस श्वानों को विषाणु की पूर्वनिर्धारित मात्रा में अन्तः क्षिप्त किया जाएगा और शेष 3 श्वानों का प्रयोग वैक्सीन न किए गए नियंत्रकों के रूप में किया जाएगा। इसकी मात्रा विषाणु अनुमापन पर आधारित होगी कम से कम 21 दिन संक्रमणोत्तर काल में वैक्सीन किए गए और नियंत्रण उग्र कैनाइन डिस्टेम्पर विषाणु की उसी मात्रा को अन्त मामपेशी रूप से प्रवेश करा दिया जाएगा और 21 दिनों तक इन पशुओं का प्रतिदिन संप्रेक्षण किया जाएगा। तीन नियंत्रकों में से कम से कम दो की मृत्यु हो जानी चाहिए और शेष उत्तरजीवी में कैनाइन डिस्टेम्पर के विशिष्ट लक्षण प्रदर्शित होने चाहिए। 10 वैक्सीन किए गए पशुओं में से कम से कम 9 को जीवित रहना चाहिए और संप्रेक्षण की अवधि के दौरान कैनाइन डिस्टेम्पर के कोई रोग लक्षण प्रदर्शित नहीं होने चाहिए। स्टॉक सीड (बीज) विषाणु का यदि भंडारण की समुचित परिस्थितियों के अधीन इसे रखा गया हो तो प्रतिरक्षाजनक के लिए कम से कम पांच वर्ष में एक बार परीक्षण किया जाना चाहिए। स्वास्थ्य समूह में से आठ दिन की आयु वाले चूजों भ्रूणों को उनकी जरायु अपरापोपिका जिल्ली पर जीवाण्विक रूप से अनुवर्त विषाणु अनुकूलित अंडे के विभेद के निबंदन से संगोपित किया जाता है पांच दिनों के उष्मायन के पश्चात् संक्रमित जिल्ली और भ्रूणों का संवर्धन किया जाता है। जीवाण्विक अनुवर्तता के लिए पृथक पृथक भ्रूणों का परीक्षण



किया जाना है। जीवाण्विक संक्रमण से गुना धूँन का समुचित माध्यमों में 20 प्रतिशत घोल बनाया जाता है—घोल एम्पुलों के वायुओं में एक मात्रा में वितरित करके हिम शुष्कित कर दिया जाता है।

एम्पुलों को निर्वात में या सीलबंद पारो के पूर्ण शुद्ध शुष्क अनुर्वरक नाइट्रोजन में सीलबंद किया जाता है। अनुकल्पतः विषाणु समुचित कोशिका संवर्धनों पर उगाए जा सकते हैं। कोशिकाएं घोल द्रवों सहित संकलित की जाती हैं। एम्पुलों में एक मात्रा में वितरित की जाती हैं और हिम-शुष्कित कर दी जाती हैं।

#### 4. मानक :—

(क) वर्णन यह शुष्क उत्पाद है, गुलाबी क्रोम किस्म को सामग्री है जो जल में या उपयुक्त गुणगन द्रव में शीघ्र घुलनशील है।

(ख) पहचान :—यह उर्वरक अंडों के सी ए एम को संक्रामित करता है। यह कैनाइन डिस्टेम्पर प्रतिसीरम के द्वारा निष्प्रभावी कर दिया जाता है। ग्रहणशील फेरिटों या श्वानों में अंतःक्षेपण के पश्चात् कोई डिस्टेम्पर नहीं करता है बल्कि उन्हें रोग के विरुद्ध प्रतिरक्षित करता है।

(ग) श्राद्धता अन्तर्वस्तु: तैयार उत्पाद में श्राद्धता अन्तर्वस्तु 1.0 प्रतिशत से अधिक नहीं होंगी।

(ख) अनुर्वरता परीक्षण : अनुर्वरता परीक्षण का अनुपालन उसी रीति से किया जाएगा जैसा कि “विषाणु वैक्सीन” विषयक विनिर्बंध (मोनोग्राफ) में वर्णित है।

(ङ) सुरक्षा परीक्षण : (i) चूहा सुरक्षा परीक्षण : पुनः बनाई गई वैक्सीन का लेबल पर यथा सिफारिश परीक्षण किया जाएगा। चार सप्ताह की आयु वाले आठ चूहों को अन्तःमस्तिष्कीय रीति से 0.03 मि. लि. से संरोपित किया जाएगा और आठ चूहों को आन्तरपयुद्धित रीति से 0.5 मि. लि. से संरोपित किया जाएगा दोनों समूहों को 7 दिन के लिए संप्रेषणाधीन रखा जाएगा यदि संप्रेषण अवधि के दौरान दोनों समूहों में से 2 या अधिक चूहों में प्रतिकूल प्रतिक्रिया, जो उत्पादों से हुई मानी जा सके, दिखाई पड़े तो वह बैच असंतोषप्रद है।

(ii) श्वान सुरक्षा परीक्षण : 8 से 14 सप्ताह की आयु वाले दो स्वस्थ श्वानों को, जिन्हें डिस्टेम्पर विषाणु निष्प्रभावक प्रतिरक्षी से पहले ही मुक्त प्रदर्शित किया जा चुका है निफारिश मार्ग से लेबल पर कथित दो मात्रा से अन्तःक्षिप्त किया

जाएगा और 21 दिन तक संप्रेषणाधीन रखा जाएगा कोई महत्वपूर्ण स्थानीय या साधारण अभिक्रिया नहीं होगी।

(च) शक्ति परीक्षण : (i) अनुमापन : तैयार उत्पादों के अन्तिम नमूनों को विषाणु अनुमाप द्वारा परीक्षण किया जाएगा और अवमान अवधि के भीतर, किसी समय परीक्षण किए जाने पर इसमें प्रति मात्रा  $10^{3.0}$  आई डी 50 से कम नहीं हानी चाहिए।

(ii) यह श्वानों पर किया जाएगा। डिस्टेम्पर निष्प्रभावक प्रतिरक्षी से मुक्त 8-14 सप्ताह की आयु के दो स्वस्थ ग्रहणशील श्वानों में से प्रत्येक को एक वैक्सीन की मात्रा के अवत्वक रूप से अन्तःक्षिप्त किया जाएगा। वैक्सीन दिए जाने के 14 दिनों के पश्चात् प्रत्येक श्वान से सीरम नमूने लिए जाएंगे और इनमें 1:100 के तनुकरण में विनिर्दिष्ट निष्प्रभावक प्रतिरक्षी होंगे।

5. लेबल लगाना :—“विषाणु वैक्सीन” के साधारण विनिर्बंध (मोनोग्राफ) में अधिकथित लेबल लगाने की अपेक्षाओं का अनुपालन किया जाएगा।

6. भंडारकरण और अवमान की तारीख : हिमशुष्कित उत्पाद के लिए जब उसका  $20^{\circ}$  से. पर भंडारकरण किया जाए अवमान की तारीख एक वर्ष होगी।

पक्षी संक्रामक श्वसनीशोथ वैक्सीन (जीवित)

1. पर्याय : पक्षी संक्रामक श्वसनीशोथ वैक्सीन (जीवित) हिमशुष्कित।

2. परिभाषाएं : यह निम्न उम्र वाले पक्षी संक्रामक श्वसनीशोथ विषाणु का हिमशुष्कित उत्पाद है जिसे कोशिका संवर्धनों में कपित भ्रूणीकृत मुर्गी के अंडे में उत्पन्न किया जाता है।

3. निर्मिति : केवल ऐसे स्टाक बीज (सीड) विषाणु का प्रयोग किया जाएगा जो शुद्ध, सुरक्षित और प्रतिरक्षाजनी हो। स्टाक सीड (बीज) के प्रत्येक लाट का परीक्षण जेन-जनक के लिए निम्नलिखित प्रकार से चूजा धूँन संरोपण परीक्षण द्वारा किया जाएगा —

(बीज) (सीड) विषाणु के एक लाट को अनुर्वर उष्मानिष्कृत विनिर्दिष्ट प्रतिसीरम के 9 आयतनों के साथ निष्प्रभावित करने के लिए मिला दिया जायेगा और विषाणु वैक्सीन सीरम मिश्रण को 9-11 दिन की आयु के कम से कम 20 पूर्णतः ग्रहणशील चूजों धूँनों में से प्रत्येक में (सी ए एम पर 0.1 मि. लि. और अपरापोषिका सेक में 0.1 मि. लि. (संरोपित) किया जाएगा। सात दिनों तक अंडों को प्रतिदिन कैंडिल किया जाता है। प्रथम 24 घंटों के दौरान होने वाली मृत्यु पर ध्यान नहीं दिया जाएगा।

किन्तु विधिमान्य परीक्षण के लिए संरोपणोन्तर 21 घंटे की अवधि में कम से कम 18 जीवनक्षम भ्रूण जीवित रहेंगे। 24 घंटों के पश्चात् मरने वाले सभी भ्रूणों और भ्रूणों में सी. ए. एम. की परीक्षा की जाएगी। यदि आवश्यक हो तो मृत्यु का कारण अवधारित करने के लिए भ्रूण उदा. संरक्षण किया जाएगा। वह परीक्षण संरोपणान्तर के 7वें दिन पूरा कर लिया जाएगा और जीवित भ्रूणों की जिनमें सी. ए. एम. भी सम्मिलित है, परीक्षा की जाएगी। यदि स्टाक बीज (सीड) विषाणु के फलस्वरूप मानी जा सकने वाली मृत्यु और/या अप्रसामान्यता हो तो लाट असंतोषजनक होगा।

स्टाक बीज (सीड) विषाणु के प्रत्येक लाट की प्रति-रक्षाजनक के लिए निम्नलिखित रूप में परीक्षा की जाएगी:

श्वसनोद्योय के प्रति ग्रहणशील एक ही आयु और स्वोत के चूजों का प्रयोग किया जाएगा। लेबल पर सिफारिश की गई प्रयोग की प्रत्येक पद्धति के लिए और प्रत्येक सीरम-प्ररूप के लिए जिनके विरुद्ध सुरक्षा का दावा किया जाये 20 चूजों का प्रयोग वैक्सीन किए गए रूप में किया जाएगा। प्रत्येक ऐसे सीरम प्ररूप के लिए, जिनके लिए संरक्षण का दावा किया जाए दस अनिरीकृत चूजों को वैक्सीन न किए गए नियंत्रण के रूप में रखा जाएगा। वैक्सीन के पश्चात् 21 से 28 दिनों के दौरान सभी वैक्सीन किए गए और नियंत्रणों को उग्र श्वसनोद्योय विषाणु के चक्षुबन्ध द्वारा चैलेंज किया जाएगा। प्रत्येक ऐसे सीरमप्ररूप के लिए जिसके विरुद्ध सुरक्षा का दावा किया जाए वैक्सीन किए गए और नियंत्रण का पृथक सैट प्रयोग किया जाएगा। चैलेंज विषाणु का अनुपात कम से कम  $10^{4.5}$  आई. ई. डी/50 प्रति मि. लि. होगा। प्रत्येक वैक्सीन किए गए और नियंत्रणों में चैलेंज करने के बाद पांच दिनों में एक बार श्वास नली से स्वैब लिया जाएगा। प्रत्येक स्वैब को एक ऐसी परखनली में रखा जाएगा जिसमें तीन मि. लि. ट्रिप्टोन फास्फेट चूर्ण और प्रतिजैविकी है। परखनली और स्वैबों को पूरी तरह से घुमाया जाएगा और अंडे के संरोपण के लक्षित रहने तक  $40^\circ$  से ग्रेड, पर भंडारित कर दिया जाएगा। प्रत्येक चूजा स्वैबों के लिए कम से कम 9 से 11 दिन की आयु वाले पांच चूजा भ्रूणों को अपरापोशिका गुहा में प्रत्येक परखनली से यूप (शोध) को 0.2 मि. लि. में संरोपित किया जाए। संरोपणोन्तर काल में तीसरे दिन जीवित सभी भ्रूणों का प्रयोग मृत्यांकन धारने में किया जाएगा। श्वासन नली स्वैब विषाणु से निरोग के लिए सकारात्मक हो जाएगा। जब भ्रूणों में से कोई विशिष्ट संक्रामक श्वसनोद्योय विषाणु के विक्षत जैसे वृद्धिरोध, कुचन गुर्दे यूरेट, संयोजन या मृत्यु संरोपणान्तर अवधि के 4-7 दिन के दौरान हो जाए।

विषाणु से निरोग होने के लिए 90 प्रतिशत नियंत्रणों को सकारात्मक साबत होना चाहिए। यदि 90 प्रतिशत से कम नियंत्रण विषाणु से निरोग के लिए नकारात्मक हो तो स्टाक बीज (बीज) असंतोषप्रद है। स्टाक बीज (सीड) विषाणु की परीक्षा प्रतिरक्षाजनों के लिए 5 वर्ष में एक बार

की जानी चाहिए यदि तो अपरापोशिका विषाणु भंडारण की मानक शर्तों के अधीन रखा गया है।

#### 4. मानक :—

(क) विवरण : तनुकारी में सहज ही धल जाने वाला वह भूरा सफेद उत्पाद है।

(ख) पहचान : (i) फील्ड प्रयोग के लिए अनुदेशों के अनुसार एंपूल की अन्तर्वस्तुएं निलंबित कर दी जाती है। 9-11 दिन की आयु वाले चूजा भ्रूणों के अपरापोशिका गुहा में ऐसे निलंबन का 0.2 मि. लि. संरोपित किया जाएगा और दस दिन बाद उष्मापित किया जाएगा। उष्मापन अवधि के अन्त में इन भ्रूणों में संक्रामक श्वसनोद्योय के विशिष्ट लक्षणों का संश्लेषण किया जाएगा। अपरापोशिका द्रव चूजा थार बी सी को आग्निष्ट नहीं करेगा।

(ii) पक्षी संक्रामक श्वसनोद्योय विषाणु के विरुद्ध विशिष्ट प्रतिसीरम वैक्सीन विषाणु को निष्प्रभावित कर देंगे।

(ग) आर्द्रता की अन्तर्वस्तु : तैयार आर्द्रता में अन्तर्वस्तु 1.0 प्रतिशत से अधिक नहीं होगी।

(घ) अनुर्वरता परीक्षण :—“विषाणु वैक्सीन” के साधारण विनिर्बंध (मोनोग्राफ) के अधीन वर्णित रूप में अनुर्वरता के संबंध में परीक्षण का अनुपालन किया जाएगा।

(ङ) सुरक्षा परीक्षण : एक ही स्वोत, बैच से लिए गए 5-10 दिन की आयु वाले दस स्वस्थ ग्रहणशील चूजों को विहित मार्ग से वैक्सीन के दस फील्ड मात्रा से वैक्सीन किया जाएगा और साथ ही उगी बैच से पांच चूजों को वैक्सीन न किए गए नियंत्रणों के रूप में रखा जाएगा तथा वैक्सीन करने के पश्चात् 21 दिनों के लिए संश्लेषणाधीन रखा जाएगा। प्रयोग किए गए एक से अधिक चूजे में न तो वीर श्वसनी लक्षण प्रकट होंगे और न ही मृत्यु घटित होगी। वैक्सीन न किए गए नियंत्रणों में से कोई चूजा किसी रोग लक्षण को प्रकट नहीं करेगा।

(च) शक्ति परीक्षण : हिमशुष्कित उत्पाद की न्यूनतम विषाणु अन्तर्वस्तु प्रति पक्षी 3.5 ई. 10 ई. आई डी 50 से कम नहीं होगी। वैक्सीन की विषाणु अन्तर्वस्तु नीचे लिखे रूप में अनुमापित की जाएगी।

हिमशुष्कित वस्तु का क्रमिक दसवार तनुकरण ट्रिप्टोन फास्फेट यूप में तैयार किया जाएगा। (9-10 दिन की आयु वाले) तीन से पांच भ्रूणीकृत अंडों को प्रत्येक तनुकरण के 0.1

मि. लि. में अपरापोषिका गृहा में संरोपित किया जाएगा और मान दिनों तक नित्य संप्रेक्षणाधीन रखा जाएगा। प्रथम 24 घंटों के दौरान घटित मुख्य ताले मामलों को छोड़ दिया जाएगा। शेष जीवन भ्रूणों की परीक्षा संक्रमण के साक्ष्य के रूप में की जाएगी और ई ग्राई डी 50 का परिकलन रीड और मृण्म पद्धति स्पीयरमैन और कार्य पद्धति से किया जाएगा।

5. लेबल लगाना :—“विषाणु वैक्सीन” के साधारण विनिर्बंध (मोनोग्राफ) के अधिकथित रूप में लेबल लगाने की अपेक्षाओं का अनुपालन किया जाएगा।

6. भंडारण और अवमान की तारीख :—छह मास के लिए 4° से. पर भंडारण किया जाएगा।

[फा. सं. एम् 11013/3/82-डी एम एम् और पी एफ ए]

जैलरा चन्द्र, संयुक्त सचिव

औषध और प्रसाधन सामग्री नियम, 1915, 1-5-75 तक यथा संशोधित रूप में स्वास्थ्य और परिवार कल्याण (स्वास्थ्य विभाग) उपखंड में जिसमें औषध और प्रसाधन सामग्री, अधिनियम और निगम (पी.डी.बी.एम्.) भी सम्मिलित हैं, अंतर्भूत हैं। नवम्बर 1975 में भारत के राजपत्र भाग 2 खंड 3(i) में प्रकाशित निम्नलिखित अधिसूचनाओं द्वारा संशोधित किए गए हैं :—

1. सा.का.नि. 1241, तारीख 6-10-1979
2. सा.का.नि. 1242, तारीख 6-10-1979
3. सा.का.नि. 1243, तारीख 6-10-79
4. सा.का.नि. 1281, तारीख 12-10-79
5. सा.का.नि. 430, तारीख 19-4-80
6. सा.का.नि. 779, तारीख 26-7-80
7. सा.का.नि. 540(अ) तारीख 22-9-80
8. सा.का.नि. 680, तारीख 5-12-80
9. सा.का.नि. 681(अ) तारीख 5-12-80
10. सा.का.नि. 682(अ) तारीख 5-12-80
11. सा.का.नि. 27(अ) तारीख 17-1-81
12. सा.का.नि. 478(अ) तारीख 6-8-81
13. सा.का.नि. 62(अ) तारीख 15-2-82
14. सा.का.नि. 462(अ) तारीख 22-6-82
15. सा.का.नि. 510(अ) तारीख 26-7-82
16. सा.का.नि. 13(अ) तारीख 26-7-82
17. सा.का.नि. 318(अ) तारीख 1-5-81
18. सा.का.नि. 331(अ) तारीख 8-5-81
19. सा.का.नि. 460(अ) तारीख 20-6-84
20. सा.का.नि. 487(अ) तारीख 2-7-84
21. सा.का.नि. 89(अ) तारीख 16-2-85
22. सा.का.नि. 788(अ) तारीख 10-10-85
23. सा.का.नि. 17(अ) तारीख 7-1-86
24. सा.का.नि. 1049(अ) तारीख 29-5-86
25. सा.का.नि. 1060(अ) तारीख 5-9-86
26. सा.का.नि. 1115(अ) तारीख 30-9-86
27. सा.का.नि. 71(अ) तारीख 30-1-87

28. सा.का.नि. 570(अ) तारीख 12-6-87
29. सा.का.नि. 626(अ) तारीख 2-7-87
30. सा.का.नि. 792(अ) तारीख 17-9-87
31. सा.का.नि. 371(अ) तारीख 14-3-88
32. सा.का.नि. 75(अ) तारीख 2-6-88
33. सा.का.नि. 675(अ) तारीख 2-6-88
34. सा.का.नि. 676(अ) तारीख 2-6-88
35. सा.का.नि. 677(अ) तारीख 2-6-88
36. सा.का.नि. 681(अ) तारीख 6-6-88
37. सा.का.नि. 735(अ) तारीख 24-6-88
38. सा.का.नि. 813(अ) तारीख 27-7-88
39. सा.का.नि. 944(अ) तारीख 21-9-88 (शुद्धिपत्र)
40. सा.का.नि. 43(अ) तारीख 20-1-89 (शुद्धिपत्र)
41. सा.का.नि. 44(अ) तारीख 20-1-89 (शुद्धिपत्र)
42. सा.का.नि. 100(अ) तारीख 14-2-89 (शुद्धिपत्र)
43. सा.का.नि. 443(अ) तारीख 12-4-89 (शुद्धिपत्र)
44. सा.का.नि. 588(अ) तारीख 2-6-89 (शुद्धिपत्र)
45. सा.का.नि. 691(अ) तारीख 11-7-89
46. सा.का.नि. 784(अ) तारीख 28-8-89
47. सा.का.नि. 16(अ) तारीख 1-10-89
48. सा.का.नि. 731(अ) तारीख 23-8-90
49. सा.का.नि. 865(अ) तारीख 25-10-90
50. सा.का.नि. 11(अ) तारीख 7-1-91
51. सा.का.नि. 223(अ) तारीख 19-4-91
52. सा.का.नि. 246(अ) तारीख 1-5-91
53. सा.का.नि. 301(अ) तारीख 7-6-91
54. सा.का.नि. 302(अ) तारीख 7-6-91
55. सा.का.नि. 491(अ) तारीख 25-7-91
56. सा.का.नि. 495(अ) तारीख 25-7-91
57. सा.का.नि. 532(अ) तारीख 14-8-91
58. सा.का.नि. 626(अ) तारीख 14-10-91
59. सा.का.नि. 668(अ) तारीख 7-11-91
60. सा.का.नि. 730(अ) तारीख 10-12-91
61. सा.का.नि. 59(अ) तारीख 22-1-92
62. सा.का.नि. 305(अ) तारीख 4-3-92 (शुद्धिपत्र)
63. सा.का.नि. 445(अ) तारीख 30-4-92
64. सा.का.नि. 597(अ) तारीख 17-6-92
65. सा.का.नि. 663(अ) तारीख 3-7-92
66. सा.का.नि. 723(अ) तारीख 11-8-92
67. सा.का.नि. 796(अ) तारीख 1-10-92
68. सा.का.नि. 877(अ) तारीख 17-11-92
69. सा.का.नि. 904(अ) तारीख 2-12-92
70. सा.का.नि. 923(अ) तारीख 14-12-92
71. सा.का.नि. 27(अ) तारीख 22-1-93 (शुद्धिपत्र)
72. सा.का.नि. 28(अ) तारीख 22-1-93
73. सा.का.नि. 86(अ) तारीख 26-2-93
74. सा.का.नि. 296(अ) तारीख 24-3-93
75. सा.का.नि. 373(अ) तारीख 13-4-93 (शुद्धिपत्र)
76. सा.का.नि. 374(अ) तारीख 13-4-93 (शुद्धिपत्र)

77. सा.का.नि. 447(प्र) तारीख 10-6-93 (गुक्तिपत्र)  
 78. सा.का.नि. 658(प्र) तारीख 19-10-93  
 79. सा.का.नि. 673(प्र) तारीख 27-10-93  
 80. सा.का.नि. 108(प्र) तारीख 22-2-94  
 81. सा.का.नि. 109(प्र) तारीख 22-2-94  
 82. सा.का.नि. 370(प्र) तारीख 7-4-94  
 83. सा.का.नि. 466(प्र) तारीख 17-5-94

## MINISTRY OF HEALTH AND FAMILY WELFARE

(Department of Health)

### NOTIFICATION

New Delhi, the 31st August, 1994

G.S.R. 659(E).—Whereas a draft of certain rules further to amend the Drugs and Cosmetics Rules, 1945 was published as required by sections 12 and 33 of the Drugs and Cosmetics Act, 1940 (23 of 1940), with the Notification of the Government of India, in the Ministry of Health and Family Welfare (Department of Health) No. GSR 836(E) dated the 30th October, 1992 in the Gazette of India, Extraordinary Part-II Section 3, Sub-section (i), dated the 30th October, 1992 inviting the objections and suggestions from all persons likely to be affected thereby before the expiry of period of thirty days from the date on which the copies of the Gazette were made available to the public.

And whereas the copies of the Gazette were made available to the public on the 11-1-1993

And whereas no objection or suggestion have been received from the public on the said draft rules by the Central Government.

Now, therefore, in exercise of the powers conferred by the sections 12 and 33 of the said Act, the Central Government, after consultation with the Drugs Technical Advisory Board, hereby makes the following rules further to amend the Drugs and Cosmetics Rules, 1945, namely :—

1.(1) These rules may be called the Drugs and Cosmetics (VIth Amendment) Rules, 1994.

(2) They shall come into force on the date of their publication in the Official Gazette.

2. In the Drugs and Cosmetics Rules, 1945 in Schedule F (1) part-I.

(1) Under the heading “(A) Provisions Applicable to the production of Bacterial Vaccines, —

(a) In paragraph 3, after entry 6, the following entries shall be inserted, namely :—

“7. Multi Component Clostridial Vaccine.

8. Hemorrhagic Septicaemia Vaccine — Alum Treated.

(b) under the monograph, Anthrax Spore Vaccine (Living).

(i) in paragraph 4 or item (g), the following item shall be substituted, namely :—

“(g) Viable Count.—the Vaccine when plated on suitable media should show 10 million viable spores per cattle dose and 5 million spores per sheep dose.”

(ii) for paragraph 6, the following paragraph shall be substituted namely :—

“(6) Expiry date.—The date of expiry of the potency of the vaccine shall be not more than two years from the date of manufacture if stored in 4°C and six months, if stored at room temperature”;

(c) The following monographs and entries shall be inserted after the monograph “Old Adjuvant Vaccine Against Pasteurellosis in Sheep and Goats”.

#### “Multicomponent Clostridial Vaccine”

1. Synonyms.—Combined anaculture of *Clostridium perfringens* type C and D, C1, septicum and C1-Oedematiens.

2. Definition.—It consists of four highly antigenic components containing the toxoids of C1, perfringens type D, C1, perfringens type C, C1, Oedematiens and C1. septicum which are prepared in double strength and then combined in such a proportion that would invoke adequate anti-toxin response in the vaccinated sheep against each antigen incorporated in the vaccine

3. Preparation.—The above Strains are grown separately in suitable liquid media under conditions which ensure maximum toxin production. The cultures are checked for purity and toxicity in mice. Solution of formaldehyde I.P., of analytical grade is added to a 0.5 per cent final concentration and formalised cultures are kept at 37°C till the product is sterilised and atoxic. The formalised anacultures are pooled, precipitated by the addition of Aluminium Chloride, 20 per cent solution in distilled water to have a final concentration of the Chemical to 10 per cent and PM adjusted to 6.0. The sedimented toxoid is reconstituted to its half the original volume in normal saline.

#### 4. Standards :—

(a) Description.—It is a whitish liquid when shaken thoroughly to contain killed bacteria and toxoid in suspension.

(b) Identification.—When injected into susceptible animals it stimulates the production of epsilon and beta antitoxins against C1. perfringens type D and C and also antitoxins against C1. septicum and toxin of C1 oedematiens.

(c) Sterility test.—Complies with the test of sterility described in general monograph on “Bacterial Vaccine.”



(d) Safety test.—Four sheep each are inoculated with 10ml. S/C of the product and these are observed for 7 days during which period the animals shall not show any local or systemic reaction.

(e) Potency test.—Eight sheep each are inoculated with 2 doses of vaccine S/C at an interval of 21 days and bled on 10th day after 2nd inoculation for collection of serum for assessing the antitoxin titre against each antigen incorporated in the vaccine. The post inoculation serum should contain not less than 2 i. u. of epsilon and beta antitoxins of *Cd. perfringens* and 2. 5. i.u. of *Cl. septicum* antitoxin and 4 i.u. of *Cl. oedematis* antitoxin.

5. Labelling and storage—Shall comply with the requirements regarding labelling and storage as laid down in the general monograph on "Bacterial Vaccine."

6. Expiry date—The expiry date of potency of vaccine shall not be more than 6 months from the date of manufacture Hemorrhagic Septicaemia Vaccine—Alum Treated.

1. Synonyms—*Pasteurella multocida* (*Yersinia Multocida*) vaccine—Alum treated.

2. Definition—The vaccine is a formalised culture of a virulent strain of *pasteurella multocida* in nutrient both treated with potash alum.

3. Preparation—A highly potent strain of *Pasteurella multocida* type I in phase I is grown on nutrient broth at 37°C. The pure growth is killed by the addition of a solution of formalin I. P. in suitable concentration (0.5 per cent). This is treated with potassium alum I.P. to give a final concentration of 1 per cent.

4. Standard :—

(a) Description—It is a white suspension containing dead bacteria and alum.

(b) Identification—It protects susceptible animals against infection with *P. Multocida*.

(c) Sterility test.—Complies with the test for sterility described under the general monograph on "Bacterial Vaccines".

(d) Safety test.—Four healthy rabbits each weighing 1 to 1.5 kg. are inoculated subcutaneously each with 5ml. of the product. There shall be no upward reaction during the period of observation for 7 days except slight local swelling. Alternatively two rabbits and six mice may be employed. The dose for mice will be 0.5 ml.

5. Labelling and Storage.—Shall comply with the requirements of labelling and storage as laid down in the general monograph on "Bacterial Vaccines".

6. Expiry date.—The date of expiry of potency of the vaccine shall be not more than six months from the date of manufacture.

(2) Under the heading "(B) Provisions Applicable to the production of Viral Vaccines,—

(a) in paragraph 3, after entry (xi), the following entries shall be inserted, namely :—

"(xii) Foot and Mouth Disease Vaccine (Inactivated); (xiii) Canine Hepatitis Vaccine (Living)".

(b) for paragraph 4, the following paragraph shall be substituted, namely :—

"4. Records :—The seed virus used in the preparation of vaccine shall, before being used for preparing a batch, be thoroughly tested for purity, safety, sterility and antigenicity by the generally accepted tests applicable to a particular virus. It shall not be more than five passages away from the stock seed virus, unless otherwise prescribed for a particular virus. The stock seed virus shall be maintained by seed—lot system at specified passage level and tested for bacterial, mycoplasmal and extraneous viral contamination. The permanent record which the licensee is required to keep shall include a record of the origin, properties and characteristics of the seed virus from which the vaccines are made";

(c) in paragraph 7, after sub-paragraph (ii), the following sub-paragraph shall be inserted namely :—

"(iii) The poultry birds from which eggs and cell culture for production of vaccines are obtained should be housed in a manner so as to keep them free from extraneous infection and shall be screened at frequent intervals for common bacterial, mycoplasmal and viral infection. The record of the tests and their results shall be maintained by the manufacturers.

(d) Under the monograph "Fowl Pox Vaccine Chick Embryo Virus (Living)", in paragraph 3, for the words :—

"Twelve to thirteen days old embryos are are injected with a suitable dilution of the suspension of the infected membrane (stock seed virus)", the following words shall be substituted namely :—

"Twelve to thirteen days old embryos are injected with a suitable dilution of the suspension of the infected members (seed virus) of chick embryo adopted fowl pox virus",

(e) Under the monograph "Fowl Pox Vaccine Pigeon Pox Virus (Living)", in paragraph 4, in sub-paragraph (c), after the second Paragraph, the following paragraph shall be inserted, namely :—

"Three of the test birds are injected intrathoracically with 0.2 ml. of 10 times of the field dose of the vaccine under test. This



Group serves to indicate whether the product is free from the virus of infectious laryngotracheitis and similar diseases”.

- (f) Under the monograph “Ranikhet Disease Vaccine (Living)”, in paragraph 4, in clause (c) the word “Coryza” shall be omitted and after the paragraph ending with word “controls”, the following paragraph shall be inserted namely :—

“Three of the test birds are injected intranasally with 0.2 ml. of the vaccine to be tested. This group serves to indicate whether the product is free from virus of Coryza and similar diseases”.

- (g) Under the monograph “Ranikhet Disease Vaccine F Strain (Living)”, in paragraph 4, in clause (c), for the figures “0.1” the figures “1.0” shall be substituted;

- (h) After the monograph Swine Fever Vaccine Lapinised (Living) the following monographs and entries shall be inserted at the end namely :—

“Foot and Mouth Disease Vaccine (Inactivated)”

1. Synonym.—Inactivated Tissue culture mono or polyvalent Foot and Mouth Disease Vaccine.

2. Definition.—Foot and Mouth Disease Vaccine is a liquid product or preparation containing one or more types of foot and mouth disease virus which have been inactivated in such a way that its immunogenic property is maintained. It may also contain an adjuvant. The vaccine is described as monovalent, bivalent, trivalent or polyvalent depending on the number of types of virus used.

3. Preparation.—The virus is propagated in suitable cell culture. The cell culture is infected with an appropriate inoculum of virus and incubated at a suitable temperature for multiplication of virus. The virus is harvested and cellular debris removed by filtration. Inactivation is carried out by a suitable agent such as formaldehyde solution or an aziridine compound. The adjuvant may be aluminium hydroxide and/or saponin. In case of inactivated gel vaccine the antigen is concentrated by sedimentation at plus 4 degree C. For preparing a polyvalent vaccine, monovalent antigens are mixed in appropriate quantities to give the final mixture which is the formulated vaccine.

#### 4. Standards :

- (a) Description.—Aluminium hydroxide gel vaccines settle down to variable degree on storage leaving the supernatant clear.
- (b) Identification.—It protects cattle against Foot and Mouth Disease due to homologous type/subtype of virus.
- (c) Sterility test.—It shall comply with the tests for sterility as prescribed under the “general monograph of viral vaccines”.

- (d) Safety test.—The test is carried out on fully susceptible cattle not less than 12 months of age and which have not been sensitized either by vaccination or previous infection. Inoculate 3 susceptible cattle each with 2 ml. of finished product at multiple sites on tongue by intradermal route and observe for 4 days. The same animals are inoculated on 4th day with 3 cattle doses subcutaneously and are observed for a further period of 6 days. The animals should not develop any signs of FMD and remain normal.

- (e) Potency test.—Each batch of the vaccine is to be tested in susceptible cattle of not less than 15 months of age. The potency test in cattle can be done either by :—

- (i)  $PD_{50}$  method :—The vaccine shall be tested by the determination of  $PD_{50}$  in susceptible cattle by challenging animals vaccinated with appropriate dilution of the vaccine made in adjuvanted or non-adjuvanted diluent as appropriate.

A minimum of 5 animals should be used per dilution and 2 unvaccinated animals to be included as controls to the challenge. All animals are needle challenged with 10,000  $ID_{50}$  of the homologous strain of virus by inoculation on the tongue on the 21st day of post-vaccination.

The control animals are to be similarly challenged. Animals are observed for 10 days for the development of lesions. Unprotected animals shows generalised lesions due to FMD. Control animals must show generalised lesions. From the number of animals protected in each group the  $PD_{50}$  content of the vaccine is calculated. The vaccine passes the test if an observed  $PD_{50}$  value of 3 or greater is obtained in the test.

- (ii) Percentage protection method in which groups of ten healthy susceptible cattle are each injected subcutaneously with the vaccinating dose and 14—21 days later the cattle are challenged by intradermal injection into three separate sites on the tongue with 10,000  $ID_{50}$  of the strain of virus used in the preparation of the vaccine. The vaccine can be passed if atleast seven out of the ten in the group are protected against the development of generalised infection whereas all the controls should react by developing primary and secondary lesions observable in the mouth and feet.

For other reasons and if cattle testing is not possible then the potency of the vaccine may be assessed in guineapigs either by Lucam ‘C’ index or  $PD_{50}$  method by challenging those which have been previously vaccinated, provided that a correlation has been established between guineapig challenge test and cattle challenge results.

The estimation of serum neutralizing antibody titre in cattle may be considered as a supportive test to evaluate potency of vaccine.

However, potency testing of vaccines in cattle, of batches whenever by other accepted methods of testing is in doubt, atleast one out of every five batches, be undertaken.

5. Labelling.—It is labelled as described under the requirements of 'Labelling' as laid down in the general monograph, with the additional requirements that the label on the container states the virus types used in the preparation.

6. Storage.—It should be protected from light and stored between 4°C to 8°C. Under these conditions it may be expected to retain its potency for not less than 12 months. Freezing of aluminium hydroxide vaccine must be avoided. The frozen product will not be fit for use.

#### Canine Hepatitis Vaccine (Living)

1. Synonyms:—Infectious Canine Hepatitis Vaccine (Living), Canine Hepatitis Cell Culture Vaccine.

2. Definition:—Canine Hepatitis Vaccine (Living) is a freeze dried preparation of tissue culture fluid containing the cell culture adapted canine hepatitis virus.

3. Preparation:—Canine hepatitis vaccine shall be prepared from virus bearing cell culture fluid.

Only stock seed virus which has been established as pure, safe and immunogenic shall be used in the preparation of the vaccine.

Immunogenicity test:—Each lot of stock seed virus shall be tested for immunogenicity as follow:—

Thirteen Canine hepatitis susceptible dogs, 8-14 weeks old shall be used for the test (10 vaccinates and 3 controls). Blood samples may be drawn from these animals and individuals serum samples tested for the presence of antibodies against canine hepatitis virus. Ten dogs shall be injected subcutaneously with predetermined quantity of the virus and remaining 3 dogs are kept as unvaccinated controls. The dose calculation will be based on virus titration in suitable cell culture system. Not less than 14 days post vaccination, the vaccinated and controls shall each be challenged intravenously with virulent infectious canine hepatitis virus and observed daily for 14 days. At least 2 out of 3 controls should die and the survivors shall show the clinical signs of canine hepatitis. Nine out of ten vaccinated dogs shall survive and shall not show any signs of infectious canine hepatitis during the observation period.

The stock seed virus shall be tested once in 5 years and maintained under standard conditions as prescribed.

The stock seed virus may be inoculated on a suitable tissue culture system and may be incubated for five to seven days.

The tissue culture fluid is then harvested and titrated in cell culture system for virus content. After appropriate dilution and pooling, the material is stored at minus 20°C until freeze dried. Each vaccine dose shall contain not less than  $10^{3.5}$  TCID<sub>50</sub> dose.

#### 4. Standards:

(a) Description:—The dried product is a pinkish cream material readily dispersible in water. The reconstituted vaccine is a pinkish liquid.

(b) Identification:—It causes characteristic cytopathic effect in dog, pig and ferret kidney monolayers. This can be neutralised by specific antiserum. When inoculated into dogs, the development of specific neutralizing antibodies can be demonstrated by suitable serological tests.

(c) Moisture content:—In the finished product moisture content shall not exceed 1.0 per cent.

(d) Sterility test:—Shall comply with the tests for sterility as described under the general monograph on "Viral Vaccines."

(e) Safety test:—Mouse safety test—Vaccine prepared for use as recommended on the label shall be tested. Eight mice shall be inoculated intracerebrally with 0.03 ml. and 8 mice shall be inoculated intraperitoneally with 0.5 ml. Both the groups shall be observed for seven days. If unfavourable reaction attributable to the product occurs in two or more mice in either group during their observation period, the batch is unsatisfactory.

Dog Safety test:—Each of the two susceptible pups aged 8-14 weeks shall be injected with vaccine equivalent of 10 vaccinating doses from the batch reconstituted with sterile diluent and administered in the manner recommended on the label and observed for 21 days. None of the pups shall show any unfavourable reaction during the period of observation.

(f) Potency test, Virus Titration:—Samples of finished product shall be tested for virus titre in suitable cell culture system. The batch shall have a virus titre of not less than  $10^{3.5}$  TCID<sub>50</sub> dose.

Potency test in dog:—Two healthy susceptible dogs of 8-14 weeks of age shall be injected subcutaneously with one Vaccine dose. 14 days after vaccination, specific neutralizing antibodies from both the dogs shall be demonstrable by serological tests.

5. Labelling:—Shall comply with the requirement for labelling as laid down in the general monograph on "Viral vaccines."

6. Storage:—The dry product shall be stored at temperature of minus 20°C or below. The vaccine is expected to retain its potency for about 6 months in the freezing chamber of the refrigerator (temperature) approximately minus 8°C.

### DUCK PLAGUE VACCINE

1. Definition:—Duck plague vaccine is a suspension of modified living virus prepared from infected chick embryos.

2. Preparation:—Fresh fertile hen's eggs obtained from Salmonella free flocks are incubated in an Incubator. Nine days old embryos are injected with 0.2 ml. of the suitable dilution (1 in 100) of the suspension of the virus on the CAM and incubated at 37°C for 5 days post-inoculation. Dead embryos of the 3rd, 4th and 5th days post-inoculation are harvested. The embryos (devoid of head and legs), clear fluid and the membranes are collected and homogenised in a Blender, ampouled in 0.5 ml. quantities and freeze dried.

3. Standards:

(a) Description:—Light brown scales.

(b) Identification:—This product affords protection to the ducks against duck plague.

(c) Safety test:—Four healthy, 8 to 12 weeks old ducks weighing not less than 600 gms are inoculated subcutaneously with 1 ml. of 10<sup>-1</sup> dilution of the vaccine and observed for a period of 14 days. During the period of observation, the ducks shall not show any untoward reaction.

(d) Sterility test:—Shall comply with the test for sterility described in the general monograph on "Viral Vaccines".

(e) Potency test:—Six susceptible ducks 8 to 12 weeks old each weighing not less than 600 gms. are inoculated subcutaneously with 1 ml. of 10<sup>-3</sup> dilution of the vaccine. The minimum virus contents in 1 ml dose. of the vaccine shall be 10<sup>3.5</sup> EID<sub>50</sub>. 14 days later these ducks are challenged subcutaneously

each with 1 ml. of 10<sup>-2</sup> dilution of the virulent duck plague virus (1000 DEID<sub>50</sub>) alongwith 2 unprotected young duck of about 8-12 weeks age. The unprotected ducks shall show symptoms of duck plague and die within 10 days. While the protected ducks shall remain normal during the observation period of 14 days.

4. Labelling:—Should comply with the requirements of labelling as laid down in the general monograph on "Viral Vaccines".

5. Storage:—Vaccine when stored at minus 15°C to minus 20°C may be expected to retain its potency for one year and about three months if stored in the freezing chamber of Refrigerator i.e. minus 5°C.

### AVIAN ENCEPHALOMYELITIS VACCINE (LIVING)

1. Synonyms:—Avian Encephalomyelitis Vaccine Freeze dried.

2. Definition:—A virus bearing tissue and fluid suspension from embryonated hen's eggs.

3. Preparation:—The stock seed virus which has been established as pure, safe and immunogenic shall be used for preparing the vaccine.

(i) Each lot of stock seed virus shall be tested for pathogenicity by chicken embryo inoculation test:

(a) One dose of the seed lot shall be mixed with 9 volumes of sterile heat inactivated specific, antiserum to neutralise vaccine virus in the product.

(b) After neutralization, 0.2 ml. of serum vaccine mixture shall be inoculated into each of at least 20 fully susceptible chicken embryos (0.1 ml. of the inoculum shall be inoculated on CAM of 9-11 days old embryos and 0.1 ml. in the allantoic sac.)

(c) Eggs shall be candled for 7 days. Deaths occurring during first 24 hours shall be discarded but at least 18 viable embryos shall survive 24 hours post inoculation for a valid test. All embryos and CAMs from embryos which die after the first day shall be examined.

(d) If the death or abnormality attributable to the inoculum occur, the seed lot is unsatisfactory.

(ii) Immunogenicity test:—Avian encephalomyelitis susceptible chicks, all of same age (8 weeks old) shall be used 20 chickens shall be inoculated with the field dose of the virus by prescribed route. Ten additional chickens of same age and flock shall be held as unvaccinated controls.

At least 21 days post vaccination, the controls and Vaccinates shall be challenged intracerebrally with Virulent avian encephalomyelitis virus, and observed each for 21 days. At least 80 per cent of controls shall show signs of avian encephalomyelitis or die. At least 19 to 20 vaccinates shall remain free from clinical avian encephalomyelitis during the observation period for the stock seed virus to be satisfactory.

#### 4. Standards:—

- (a) Description:—Greyish white flakes easily dispersible in the diluent.
- (b) Identification:—At least 5-6 days old embryonated eggs (from hens with no history of infection with avian encephalomyelitis) shall be inoculated with 0.1 ml of undiluted vaccine into the yolk sac and kept in incubator and then transferred to the brooder where they are allowed to hatch. The hatched chicks shall be raised for 7 days. More than 5 per cent of hatched chicks shall manifest the typical symptoms (weak-ling, leg paralysis tremor etc.) at the end of this period.
- (c) Moisture content:—Shall not exceed 1.0 per cent.
- (d) Sterility test:—Shall comply with the test for sterility described under general monograph on "Viral Vaccines".
- (e) Safety test:—At least 25 avian encephalomyelitis susceptible birds (6-10 weeks of age) shall be vaccinated with 10 field doses by the recommended route and observed each day for 21 days. If unfavourable reactions attributable to the vaccine occur during the observation period, the batch of vaccine is unsatisfactory.
- (f) Potency Test:—
  - (i) The vaccine shall be titrated for virus content. To be eligible for release, the batch shall have a virus titre of at least  $10^{2.5}$  EID<sub>50</sub> per dose.
  - (ii) At least 10 susceptible chickens shall be vaccinated with the field dose of the vaccine by prescribed route and 10 chickens from same batch and source shall be kept as unvaccinated controls.

At least 21 days post-vaccination, both the groups shall be challenged intracerebrally with Virulent avian encephalomyelitis virus and observed for 21 days. At least 8 out of 10 controls shall develop recognisable signs

or lesions of avian encephalomyelitis and at least 8 out of 10 vaccinates should remain normal.

5. Labelling:—Shall comply with the requirement of labelling as laid down in general monograph on "Viral Vaccines".

#### Marek's Disease Vaccine (Living)

1. Synonyms—Herpes virus of Turkey (vaccine HVT vaccine (Living).

2. Definition—Marek's disease vaccine is a suspension of cell free fluid containing live virus.

3. Preparation—The stock seed virus which has been established as pure, safe and immunogenic in avian species shall be used for preparing the seed virus for vaccine production.

(i) Safety Test—The Stock seed virus shall be non-pathogenic for chickens as determined by the following procedure:

The groups of at least 25 chickens each at one day of age shall be used. These chickens shall be of the same source and batch, be susceptible to Marek's disease and be kept in isolated group.

Group I: Each chicken shall be injected with 0.2 ml. of 10 times as much viable virus as will be contained in one dose of vaccine by intramuscular route.

Group II : Shall serve as controls. At least 20 chickens in each group shall survive for four days post injection. All chickens that die shall be necropsied and examined for lesions of Marek's disease and cause of death. The test shall be judged according to the following :—

At 120 days of age, the remaining chicken in both the groups shall be weighed, killed and necropsied. If at least 15 chicken in each of these two groups have not survived the 120 days period or if any of the chicken of group-I have gross lesions of Marek's disease at necropsy or if the average body weight of the chickens in Group-I is significantly (Statistically) different from the average of Group-II at the end of 120 days, the lot of stock seed virus is unsatisfactory.

(ii) Purity test—shall be conducted in chickens and no lesions other than those typical of Turkey Herpes virus shall be evidenced.

(iii) Immunogenicity test—Sixty susceptible day old chicks are used. Thirty of them inoculated with the seed virus in a dose corresponding to the field dose of the final vaccine and 14-21 days later challenged by intrabdominal route with



virulent Marek's disease virus, alongwith the other 30 non-vaccinated control chicks. At the end of the observation period when the chicks are 20 weeks old, the surviving chickens are examined for the presence of antibody against Marek's disease by serological tests and post-mortem inspection for lesions of Marek's disease.

Any bird dead is thoroughly examined and the cause of death ascertained by necropsy/histopathological examination. All the surviving birds are killed and necropsied. The protection index (PI) is determined by following procedure:

$$1. \text{ Percent MD} = \frac{\text{No. with MD lesions}}{\text{No. with MD lesions} + \text{No. of-ve Su-vivours (effective No.)}} \times 100$$

$$2. \text{ P.I.} = \frac{\text{Percent MD in controls} - \text{Percent MD in vaccinated}}{\text{Percent MD in controls}} \times 100$$

Master seed virus should have P.I. of at least 80 per cent.

Eighty per cent of the chicks in the control group must fall ill specifically. If more than 80 per cent of the vaccinated chickens do not show symptoms or signs of Marek's disease, the seed virus is regarded as sufficiently effective and can be used for production of vaccine.

The seed virus is propagated in duck embryo fibro-blast cell culture, chick embryo fibroblast or any other suitable cell culture (specific pathogen free SPF flock) and when the peak passage level is attained the cell monolayer is suspended in cold diluent of the following composition.

SPGA Stabilizer

0.218 % Sucrose

0.0038 % monosodium phosphate

0.0072 % dipotassium phosphate

L Monosodium glutamate 0.0049 M

1 per cent bovine albumin Fraction (V)

0.25 per cent EDTA (Sterilised by Sitz filtration and stored at minus 10°C). The virus is freed from cells by ultrasonication for 3 minutes interrupted after every 30 seconds) at 100 MA and freeze dried at minus 60°C preferably in shelf freeze dried in convenient volumes. The doses per ampoule vial is calculated after titrating the freeze dried product in terms of plaque forming units (PFU) in the corresponding cell monolayers.

#### 4. Standards:—

- (a) Description —The cell free freeze dried HVT vaccine looks uniformly greyish in colour and easily dispersible in the specified diluent.
- (b) Identification:—The vaccine on inoculation in suitable cell culture system shall cause cytopathic effect typical of Herpes virus of Turkey. Specific antiserum of Herpes virus of Turkey shall neutralize the cytopathic effect.
- (c) Moisture content:—Moisture content shall not exceed one per cent.
- (d) Sterility test — shall comply with the test prescribed in general monograph on "Viral vaccines".
- (e) Safety test:—At least 25 one day old chickens shall be injected with ten times of the field dose of vaccine by intramuscular route. The chickens shall be observed each day for 21 days. Chickens dying during the period shall be examined. Cause of death determined and the results recorded as follows :—

(i) If at least 20 chickens do not survive the observation period, the test is inconclusive.

(ii) If lesions of any disease or cause of death are directly attributable to the vaccine the vaccine is unsatisfactory.

- (f) Potency test:—The sample shall be titrated in the cell culture system. A satisfactory batch shall contain at least 1500 plaque forming units (PFU) per dose at the time of release and maintain at least 1000 PFU till the end of expiry period.

5. Labelling:—Shall comply with the requirements of labelling as laid down in general monograph on "Viral Vaccines".

6. Storage and expiry date : The freeze dried cell free HVT vaccine may be stored at 4°C for 6 months.

#### GOAT POX VACCINE (LIVING CELL CULTURE)

1. Synonym:—Goat Pox Vaccine (living), attenuated goat pox vaccine.

2. Definition:—Goat Pox vaccine is freeze dried preparation, prepared by growing attenuated goat pox virus in kid kidney/testicular cell culture.

3. Preparation:—Primary kidney/testicular cell Cultures of disease free kid are used. The monolayers infected with the seed virus are incubated at 37°C. The cultures are harvested by three cycles



of freezing and thawings 6 to 7 days post infection when more than 80 per cent cells show CPE. The suspension is centrifuged at 1000 rpm for 10 minutes to remove cellular debris being stored at minus 20°C. The suspension is freeze dried after addition of 5 per cent Lactalbumin hydrolysate and 10 per cent sucrose.

4. Standards:—

- (a) Description:—Light yellow colour.
- (b) Identification:—The product affords protection to goat against goat pox.
- (c) Moisture content:—The moisture content shall not exceed 1.0 per cent.
- (d) Safety tests:—
  - (i) Laboratory animals:—Six mice, 3 guinea pigs and 3 rabbits are inoculated with 0.2 ml. intraperitoneally, 0.5 ml. and 1.0 ml. subcutaneously, respectively with 10 field doses of the vaccine. The inoculated animals during the observation period of 80 days shall remain normal.
  - (ii) Goat:—Two susceptible goats of 6 to 8 months of age are inoculated in post-axillary region by subcutaneous route with one hundred field dose of the vaccine. The inoculated animals shall not develop more than a local reaction of 2 to 3 cms. These animals shall be observed for 10 days.
- (e) Sterility test:—Shall comply with the test for sterility described under the general monograph on "Viral Vaccines".
- (f) Titration in cell culture. Four randomly selected samples are inoculated in kid kidney cell cultures using 5 tubes for each dilution. The titration shall be repeated thrice. One thousands TCID<sub>50</sub> is used as a field dose.
- (g) Potency Test:—The three susceptible goats (8-10 months) are inoculated with 1/10th field dose and 3 susceptible goats (8-10 months) with one field dose, subcutaneously. Three incontract controls are also kept with the inoculated goats. These animals are observed for a period of 14 days and their body temperature recorded daily. The vaccinated animals shall not show any thermal, local or generalised reaction. Twenty one days post-infection, the vaccinated and controls are challenged with 10,000 TCID<sub>50</sub> of virulent goat pox virus by intradermal route. The temperature of these goats are recorded for a period of 14 days. The vaccinated goats

shall not develop localised or generalised reaction while control goats shall develop high fever, localised reaction or even generalised reaction in some cases.

5. Labelling:—Shall comply with requirements of labelling as laid down in the general monograph on "Viral Vaccines".

6. Storage and expiry date:—The vaccine is expected to retain its potency for 12 months if stored at minus 15°C to minus 20 degree C and for three months at 2 to 4°C.

SHEEP POX VACCINE (INACTIVATED)

1. Synonym:—Formal gel sheep pox vaccine.

2. Definition:—Sheep pox vaccine is a formaline inactivated gel treated tissue vaccine.

3. Preparation —Healthy susceptible sheep of 8-12 months of age are inoculated subcutaneously with 500 ml. of the 1:100 dilution of the Russian Virulent Sheep Pox Virus. Seven to eight day post inoculation skin of the abdomen alongwith the oedema is collected. The infected tissues are homogenised in 10 per cent concentration in phosphate buffer (ph 7. 4-7.6) which after the extraction of the virus is mixed with sterile gel and buffer in following proportion:—

6 per cent aluminium hydroxide gel—50 per cent.  
Phosphate Buffer (pH 7.6)—35 per cent.  
10 per cent suspension—15 per cent.

This is later formalised and kept at 20-25°C/10°C for varying periods.

4. Standards —

- (a) Description:—It is a greyish white suspension. During storage the gel settles at the bottom, upper layer of the suspension is clear
- (b) Identification:—This product affords protection to sheep against sheep pox.
- (c) Safety test: —This is carried out by inoculating 2 white mice with 0.2 ml., one guinea pig with 1.0 ml and one rabbit with 3.0 ml. of vaccine. The animals should remain clinically healthy for 10 days.
- (d) Sterility test: —This is done by seeding the vaccine on usual bacterial media. The plates and tubes are incubated for 10 days at 37°C. If the pathogenic bacteria are found, the vaccine is rejected while with non-pathogenic bacteria the vaccine is passed for field use.
- (e) Potency test :—This is done by inoculating 4 non immune susceptible sheep preferably

exotic breed of 1-2 years with 3 ml. of vaccine in the thigh, subcutaneously.

The vaccinated sheep are challenged 15 days after inoculation along with 3 controls each with 0.1 ml. of virulent virus containing 200 infective doses intradermally under the tail. The sheep are observed for 10 days and their skin reaction recorded. The vaccine is considered potent if all the vaccinated sheep do not show thermal or local skin reaction. Vaccine is also potent if 3 vaccinated animals do not develop any reaction and one shows abortive skin reaction, while at least 2 of the 3 controls develop typical sheep pox reaction at the site of inoculation.

5. Labelling—shall comply with the requirements of labelling as laid down in the general monograph on "Viral Vaccines".

6. Storage—The vaccine shall be stored at 4 to 5°C. It keeps well at above temperature upto 12 months.

#### SHEEP POX VACCINE (LIVING CELL CULTURE)

1. Synonym—Sheep pox vaccine (Living), attenuated sheep pox vaccine.

2. Definition—Sheep pox vaccine is freeze dried preparation prepared by growing attenuated sheep pox virus in lamb kidney/testicular cell cultures.

3. Preparation.—Primary cell cultures prepared from kidney/testicles of disease free lambs are used. The mono layers infected with the seed virus are incubated at 37°C. The cultures are harvested by 3 cycles of freezing and thawing 6 to 7 days post infection when more than 80 per cent cells show C.P.E. The suspension is centrifuged at 1000 r.p.m. for 10 minutes to remove cellular debris before being stored at minus 20°C. The suspension is freeze dried after addition of 5 per cent Lactalbumin hydrolysate and 10 per cent sucrose.

4. Standards—

(a) Description—Light yellow colour.

(b) Identification—The product affords protection to sheep against sheep pox.

(c) Moisture contents—The moisture contents should not exceed 1.00 per cent.

(d) Safety tests—

(i) Six mice, 3 guinea pigs and 3 rabbits are inoculated with 0.2 ml., intraperitoneally 0.5 ml. and 1.0 ml. subcutaneously, respectively containing 10 field doses of the vaccine. The inoculated animals during the observation period of 10 days should remain normal.

(ii) One hundred field doses of the vaccine are inoculated subcutaneously into each of 2 susceptible sheep in postaxillary region. Inoculated animals shall not develop more than a local reaction of 2 to 3 cms.

(e) Sterility test—Shall comply with the test for sterility as described under the general monograph on "Viral Vaccines".

(f) Titration in cell culture—Four randomly selected samples reconstituted in a maintenance medium are inoculated in lamb kidney cell cultures using 5 tubes for each dilution. The titrations shall be repeated thrice. The TCID<sub>50</sub> to be calculated by Read and Muonch method. One thousand TCID<sub>50</sub> is calculated as one field dose.

(g) Potency test—Three susceptible sheep 8-10 months old are inoculated with 1/10th, field dose and 3 susceptible sheep with one field dose, subcutaneously. Three incontact controls are also kept with the inoculated sheep. These animals are observed for a period of 14 days and their temperature is recorded daily. The vaccinated animals should not show any thermal, local or generalized reactions. Twenty one days post-infection the vaccinated and controls are challenged with 10,000 ID<sub>50</sub> of virulent sheep pox virus by intradermal route. The temperature of these sheep are recorded for a period of 14 days. The vaccinated sheep should not develop localised or generalised reaction while control sheep should develop high fever, localised reaction or even generalised reaction in some cases.

5. Labelling—Shall comply with requirements of labelling as laid down in the general monograph on "viral vaccines".

6. Storage and expiry date—The vaccine is expected to retain its potency for 12 months if stored at minus 15°C to minus 20°C and three months at 2°C to 4°C.

#### TISSUE CULTURE RINDERPEST VACCINE

1. Synonyms—Cell Culture Rinderpest Vaccine.

2. Definition—Tissue culture Rinderpest vaccine is a freeze dried preparation of live modified rinderpest virus adapted to and propagated in cell culture.

3. Preparations—Primary or secondary monolayer cultures of the kidney cells (Bovine or any other suitable animals) taken from kidney from healthy animals free from any pathological changes shall be

used. When secondary cultures are used they shall have retained their original morphology and Karyotype. Kabete 'O' stain of Rinderpest virus developed by East African veterinary Research Organisation (Plowrights strain between the passage levels of 99th and 100th passages) shall be used. The virus harvested from cell monolayer culture prepared from the kidneys of a single calf or serially cultivated bovine kidney cells (Not more than 10 passages away from the Primary) inoculated with the same seed and harvested together, will be freeze dried with stabilisers in suitable quantities.

4. Standards—It complies with the requirements of general standards of viral vaccines:

- (a) Description—Dry light yellow coloured flakes readily soluble in chilled saline or buffered saline.
- (b) Identifications—(i) Protects cattle against a subsequent challenge with virulent or caprinised rinderpest virus.
- (ii) It is titrable in tissue culture systems capable of supporting the multiplication of this virus. The test shall be made on at least three separate occasions using a cell culture derived from different animals.
- (iii) Specificity test shall be performed using an appropriate serum neutralisation test.
- (c) Sterility tests—Each batch shall be tested for bacterial and mycotic sterility as given in general monograph on "Viral Vaccines".
- (d) Innocuity test—Shall be made on each batch in at least two guinea pigs and six mice. These animals shall be observed for atleast two weeks for any untowards reaction.
- (e) Safety and efficacy test—The test for safety and efficacy shall be performed using the pooled reconstituted contents of not less than 4 ampoules taken at random. The vaccine shall be injected subcutaneously into each of at least two susceptible cattle free from specific antibodies using the quantity containing not less than 100 field doses and two further cattle and using 1/10th of a field dose (calculated on the basis of 1000 TCID<sub>50</sub> as one field dose). The animals shall be housed with at least two unvaccinated animals and observed for a period of three weeks. The vaccine passes the safety test if the cattle show no signs of unusual clinical reactions.

At the end of three weeks all the four animals will be challenged alongwith two incontact cattle with a challenge dose of not less than 10<sup>4</sup> ACID<sub>50</sub>

of virulent Rinderpest virus. The vaccine passes the potency/efficacy test if the incontact animals develop rinderpest and all the vaccinated animals remain normal.

5. Labelling—Shall comply with general monograph on "Viral Vaccines". Each ampoule or at least 50 per cent ampoules in a lot shall contain at least following print :

- (i) TCRP Vaccine.
- (ii) Batch No. with year
- (iii) General instructions for use.

6. Storage—The vaccine when stored at minus 20° C and plus 4 degree C will maintain its titre for 2 years and 6 months respectively.

### CANINE DISTEMPER VACCINE

1. Synonyms —Canine Distemper Vaccine (Living)—Freeze dried.

2. Definition:—It is freeze dried preparation of either tissues from chick embryo containing egg adapted strain of canine distemper virus or the cell culture in which modified virus has been cultivated.

3. Preparation:—Canine distemper vaccine shall be prepared from virus bearing cell culture, fluid or infected chorioallantoic membrane. Only stock seed virus which has been established as pure, safe and immunogenic shall be used for the preparation of vaccine. Stock seed virus propagated in chicken embryo shall be tested for pathogen by chicken embryo test. One volume of the virus shall be mixed with 9 volume of specific sterile heat inactivated serum to neutralise the virus. Mixture shall be inoculated into twenty (9 to 11 days old) chicken embryo (with 0.1 ml. on CAM and 0.1 ml. in allantoic sac). Embryonated eggs shall be candled for 7 days daily. Deaths occurring in the first 24 hours shall be discarded. CAMS of embryos which die after 24 hours shall be examined. When necessary embryo sub-culture shall be made to determine the cause of death. The test should be concluded on the 7th day post inoculation.

The surviving embryos and their CAMS are examined. If deaths or abnormality due to the inoculum occur, the seed virus is unsatisfactory.

Immunogenicity test:—Thirteen susceptible dogs 8-14 weeks old, shall be used for the test (ten vaccinates and 3 controls). Blood samples are drawn from these animals and individual sample is tested for antibodies against canine distemper. Ten dogs shall be injected with a predetermined quantity of the virus and remaining 3 dogs are used as unvaccinated controls. The dose shall be based on the

virus titration. At least 21 days post infection the vaccinated and controls shall be challenged intramuscularly with the same dose of virulent canine distemper virus and the animals are observed each day for 21 days. At least 2 out of 3 controls should die and survivor should show the symptoms typical of canine distemper. At least 9 out of 10 vaccinated animals should survive and should not show any clinical signs of canine distemper during the observation period. The stock seed virus should be tested for immunogenicity at least once in 5 years, if maintained under suitable conditions of storage. Eight days old chicken embryos from a healthy flock are inoculated on their chorioallantoic membrane with bacteriologically sterile virus suspension of egg adapted strain. After incubation for a period of five days, infected membrane and embryos are harvested. The individual embryo is tested for bacterial sterility. Those free from bacterial contamination are made into a 20 per cent suspension in a suitable medium. The suspension is distributed in a single dose quantity into the ampoules or vials and freeze dried.

The ampoules are sealed under vacuum or with pure dry sterile nitrogen before sealing. Alternatively, the virus may be grown on the suitable cell culture. Cells along with the suspending fluid is harvested, distributed in single dose quantity in ampoules and freeze dried.

#### 4. Standards:—

- (a) Description:—It is a dry product, pinkish cream material, readily dispersible in water or a suitable solvent.
- (b) Identification:—It infects CAM of fertile eggs. This is neutralised by canine distemper antiserum. It does not cause distemper after injection into susceptible ferrets or dogs but immunizes them against the disease.
- (c) Moisture content:—Moisture content in the finished product shall not exceed more than 1.0 per cent.
- (d) Sterility test:—Shall comply with the test for sterility as described in the general monograph on "Viral Vaccines."
- (e) Safety tests:—(i) Mice safety test; Reconstituted vaccine as recommended on the label shall be tested.

Eight mice, 4 weeks old shall be inoculated intracerebrally with 0.03 ml. and 8 mice shall be inoculated intraperitoneally with 0.5 ml. Both groups shall be observed for 7 days, if unfavourable reaction attributable to the product in either 2 or more mice

in either group is observed during observation period, the batch is unsatisfactory.

(ii) Dog Safety test:—Inject two healthy dogs, eight to fourteen weeks old that have previously been shown to be free from distemper virus-neutralising antibodies by the recommended route with twice the dose stated on the label and observe for 21 days. No significant local or general reaction develops.

(i) Potency test: (i) Titration: Final samples of finished product shall be tested for virus titre, and when tested at any time within the expiry period, it should contain not less than  $10^3$  ID<sub>50</sub> per dose.

(ii) It shall be carried out in dogs. Two healthy susceptible dogs each of 8-14 weeks of age free from distemper neutralising antibodies are injected subcutaneously each with one vaccinating dose. Serum samples shall be collected from each dog 14 days after vaccination and these shall have specific neutralizing antibodies at a dilution of 1:100.

5. Labelling:—Shall comply with the requirements of labelling as laid down in the general monograph on "Viral Vaccines".

6. Storage and expiry date:—For the freeze dried product the expiry date is one year when stored at minus 20°C.

#### AVIAN INFECTIOUS BRONCHITIS VACCINE (LIVING)

1. Synonyms:—Avian Infectious Bronchitis Vaccine (Living) freeze dried.

2. Definition:—It is a freeze dried product of low virulent Avian Infectious Bronchitis Virus grown in embryonated hen's eggs of cultivated in cell culture.

3. Preparation:—Only stock seed virus which has been established as pure, safe and immunogenic shall be used. Each lot of stock seed virus shall be tested for other pathogens by chicken embryo inoculation tests as follows:—

A lot of seed virus shall be mixed with 9 volumes of sterile heat inactivated specific antiserum to neutralise and the vaccine virus serum mixture shall be inoculated into each of at least 20 fully susceptible chicken embryos of 9-11 days old (0.1 ml. on CAM and 0.1 ml. in the allantoic sac). Eggs are candled daily for 7 days. Deaths occurring during first 24 hours shall be discarded but at least 18 viable embryos shall survive 24 hours post inoculation for a valid test. All embryo and CAMS from embryos shall be examined which die after 24 hours. If necessary embryo subcultures shall be made to determine the



cause of death. The test shall be concluded on the 7th day post inoculation and surviving embryos including the CAM shall be examined. If death and or abnormality attributable to the stock seed virus occur, the seed lot is unsatisfactory.

Each lot of stock seed virus shall be tested for immunogenicity as below:—

Bronchitis susceptible chickens of the same age and source shall be used. For each method of administration recommended on the label and for each serotype against which protection is claimed, 20 chicks shall be used as vaccinates. Ten additional chickens for each serotypes against which protection is claimed shall be held as unvaccinated controls. 21 to 28 days post vaccination all vaccinates and controls shall be challenged by eye drops with virulent Bronchitis virus. A separate set of vaccinates and controls shall be used for each serotype against which protection is claimed. The challenge virus shall have a titre of at least  $10^{4.6}$  EID<sub>50</sub> per ml. Trachea swabs shall be taken once 5 days post challenge from each vaccinates and controls. Each swab shall be placed in test tube containing 3 ml. of tryptose phosphate broth and antibiotics. The tubes and swabs shall be swirled thoroughly and stored at minus 40°C pending egg inoculation. For each chicken swabs at least 5 chicken embryos, 9-11 days old shall be inoculated in the allantoic cavity with 0.2 ml. of broth from each tube. All the embryos surviving 3rd day post inoculation shall be used in evaluation. A tracheal swab shall be positive for virus recovery when any of the embryos show typical infections bronchitis virus lesions such as stunting, curling, kidney urates, clubbed down or death during 4-7 days post inoculation period.

90 per cent of the controls should prove positive for virus recovery. If less than 90 per cent of the controls are negative for virus recovery, the stock seed is unsatisfactory. The stock seed virus should be tested for immunogenicity once in 5 years provided it is maintained under standard conditions of the bronchitis virus storage.

#### 4. Standards:—

- (a) Description:—It is greyish-white product easily dispersible in the diluent.
- (b) Identification:—(i) The contents of the ampoule are suspended as per the instructions for the field use. The 0.2 ml. of the suspension shall be inoculated in the allantoic cavity of 9-11 days old chicken embryo and are incubated for 7 days. The lesions typical of infectious bronchitis shall be observed in the embryos at the end of incubation period.

The allantoic fluid shall not agglutinate the chicken RBC's.

(ii) Specific antisera against avian infectious bronchitis virus should neutralise the vaccine virus.

- (c) Moisture content:—Moisture content in the finished product should not exceed 1.0 per cent.
- (d) Sterility test:—Complies with the test for sterility as described under the general monograph on 'Viral Vaccines.'
- (e) Safety test:—Ten healthy susceptible chickens 5-10 days old from the same source, batch shall be vaccinated with ten field doses of the vaccine and alongwith five chicks from same batch as unvaccinated controls by the prescribed route and observed 7 or 21 days post vaccination. Neither severe respiratory symptoms nor death shall occur to more than one experimental chicks. None of the unvaccinated control shall show any clinical symptoms.
- (f) Potency test:—The minimum virus content of the freeze dried product shall be not less than  $10^{3.5}$  EID<sub>50</sub> per bird. The virus content of the vaccine shall be titrated as below:—

Serial ten fold dilution of the freeze dried material will be made in tryptose phosphate broth. Three to five embryonated eggs (9-11 days old) shall be inoculated with 0.1 ml. of each dilution into the allantoic cavity and observed daily for 7 days.

Deaths occurring during the first 24 hours shall be discarded. The surviving embryos are examined for the evidence of infection and EID<sub>50</sub> shall be calculated by the Reed and Muench Method/Spearman and Karber method.

5. Labelling:—Shall comply with the requirement for labelling as laid down in the general monograph on "Viral Vaccine".

6. Storage and expiry date:—Can be stored at 4°C for six months.

[No. X-11013/3/82-DMS&PFA]  
SHAILAJA CHANDRA, Jt. Secy.

Note:—The Drugs & Cosmetics Rules, 1945 as amended upto 1-5-1979 is contained in the publication of the Ministry of Health & Family Welfare (Department of Health) containing the Drugs & Cosmetics Act and the Rules (PDGHS-61). Subsequently



the said rules have been amended by the following notification published in Part II, Section 3, Sub-section (i) of Gazette of India, namely:-

1. GSR 1241 dated 6-10-1979
2. GSR 1242 dated 6-10-1979
3. GSR 1243 dated 6-10-1979
4. GSR 1281 dated 12-10-1979
5. GSR 430 dated 19-04-1980
6. GSR 779 dated 26-7-1980
7. GSR 540(E) dated 22-9-1980
8. GSR 680 (E) dated 5-12-1980
9. GSR 631(E) dated 5-12-1980
10. GSR 682 (E) dated 5-12-1980
11. GSR 27 (E) dated 17-1-1981
12. GSR 478(E) dated 6-8-1981
13. GSR 62(E) dated 5-2-1982
14. GSR 462(E) dated 22-6-1982
15. GSR 510(E) dated 26-7-1982
16. GSR 13(E) dated 7-1-1983
17. GSR 318(E) dated 1-5-1984
18. GSR 331(E) dated 8-5-1984
19. GSR 460 (E) dated 20-6-1984
20. GSR 487(E) dated 2-7-1984
21. GSR 89(E) dated 16-2-1985
22. GSR 788(E) dated 10-10-1985
23. GSR 17(E) dated 7-1-1986
24. GSR 1049(E) dated 29-8-1986
25. GSR 1060(E) dated 5-9-1986
26. GSR 1115(E) dated 30-9-1986
27. GSR 71(E) dated 30-1-1987
28. GSR 570(E) dated 12-6-1987
29. GSR 620(E) dated 2-7-1987
30. GSR 792 (E) dated 17-9-1987
31. GSR 371(E) dated 24-3-1988
32. GSR 75(E) dated 2-6-1988
33. GSR 675(E) dated 2-6-1988
34. GSR 676(E) dated 2-6-1988
35. GSR 677(E) dated 2-6-1988
36. GSR 680(E) dated 6-6-1988
37. GSR 735(E) dated 24-6-1988
38. GSR 813(E) dated 27-7-1988
39. GSR 944(E) dated 21-9-1988 Corrigendum
40. GSR 43(E) dated 20-1-1989 Corrigendum
41. GSR 44(E) dated 20-1-1989 Corrigendum
42. GSR 100(E) dated 14-2-1989 Corrigendum
43. GSR 443(E) dated 12-4-1989
44. GSR 588 (E) dated 2-6-1989 Corrigendum
45. GSR 691(E) dated 11-7-1989
46. GSR 784(E) dated 28-8-1989
47. GSR 16(E) dated 10-1-1990
48. GSR 731(E) dated 23-8-1990
49. GSR 865(E) dated 25-10-1990
50. GSR 11(E) dated 7-1-1991
51. GSR 223(E) dated 19-4-1991
52. GSR 246(E) dated 1-5-1991
53. GSR 301(E) dated 7-6-1991
54. GSR 302(E) dated 7-6-1991
55. GSR 491 (E) dated 25-7-1991
56. GSR 495(E) dated 25-7-1991
57. GSR 532(E) dated 14-8-1991
58. GSR 626(E) dated 1-10-1991
59. GSR 668(E) dated 1-11-1991
60. GSR 730(E) dated 10-11-1991
61. GSR 59(E) dated 22-1-1992
62. GSR 305 (E) dated 4-3-1992 Corrigendum
63. GdR 445(E) dated 30-4-1992
64. GSR 597(E) dated 17-6-1992
65. GSR 663(E) dated 3-7-1992
66. GSR 723(E) dated 11-8-1992
67. GSR 796(E) dated 1-10-1992
68. GSR 877(E) dated 17-11-1992
69. GSR 904(E) dated 2-12-1992
70. GSR 923(E) dated 14-12-1992
71. GSR 27(E) dated 22-1-1993 (Corrigendum)
72. GSR 28(E) dated 22-1-1993
73. GSR 86(E) dated 26-2-1993
74. GSR 296(E) dated 24-3-1993
75. GSR 373(E) dated 13-4-1993 (Corrigendum)
76. GSR 374(E) dated 13-4-1993 (Corrigendum)
77. GSR 447(E) dated 10-6-93 (Corrigendum)
78. GSR 658(E) dated 19-10-1993
79. GSR 673(E) dated 27-10-93
80. GSR 108(E) dated 22-2-94
81. GSR 109 (E) dated 22-2-94
82. GSR 370 (E) dated 7-4-94
83. GSR 466(E) dated 17-5-94

